

Aus der Klinik für Innere Medizin III mit den Schwerpunkten Kardiologie, Angiologie und  
internistische Intensivmedizin

(Direktor: Prof. Dr. med. Norbert Frey)

im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel an der  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Osteopontin als biologischer Marker in der  
Evaluation der Hypertrophen Kardiomyopathie  
– eine Pilotstudie**

**Inauguraldissertation**

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Tobias Osterwald**

aus Eckernförde

Kiel 2017



1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Christoph Langer
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Burkhard Bewig

Tag der mündlichen Prüfung: 05. Juli 2018

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 31. März 2018

gez.: Prof. Dr. Johann Roider

(Vorsitzender des Ausschusses für Promotion)



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>III</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Epidemiologie .....	1
1.2 Morphologie .....	1
1.3 Klinik.....	3
1.4 Diagnostik .....	4
1.5 Biomarker .....	7
1.6 Zielsetzung/Pilotstudie .....	9
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>10</b>
2.1 Material .....	10
2.2 Methoden.....	10
2.2.1 OPN-Messung .....	10
2.2.2 Zweidimensionale transthorakale Echokardiographie .....	11
2.2.3 <i>Late Enhancement</i> Mehrschicht Computertomographie.....	13
2.2.4 <i>Late Gadolinium Enhancement</i> Magnetresonanztomographie .....	14
2.2.5 Statistische Auswertung .....	15
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>16</b>
3.1 Patientenkollektiv .....	16
3.2 Kontrollkollektiv .....	17
3.3 Osteopontin im Zusammenhang anamnestischer und klinischer Parameter .....	17
3.4 Osteopontin .....	22
3.5 Zweidimensionale transthorakale Echokardiographie .....	23
3.5.1 Linksventrikuläre Muskelmasse bzw. Linksventrikulärer Muskelmasseindex.....	23
3.5.2 Diastolische Funktion.....	26
3.6 Korrelation der linksventrikulären Muskelmasse sowie quantifiziertem <i>Late Gadolinium Enhancement</i> aus der Magnetresonanztomographie .....	28
3.7 Korrelation der linksventrikulären Muskelmasse sowie quantifiziertem <i>Late Enhancement</i> aus der Mehrschicht Computertomographie.....	29
<b>4 Diskussion</b>	<b>30</b>
4.1 Ergebnisse der transthorakalen Echokardiographie .....	30
4.1.1 Linksventrikuläre Muskelmasse, linksventrikulärer Muskelmasseindex.....	30

## Inhaltsverzeichnis

4.1.2 Diastolische Herzinsuffizienz des linken Ventrikels.....	32
4.1.3 Systolische Herzinsuffizienz des linken Ventrikels .....	33
4.1.4 Linksventrikuläre Ausflusstraktobstruktion, <i>Systolic Anterior Motion</i> -Phänomen der Mitralklappe, Mitralklappeninsuffizienz.....	34
4.2 Linksventrikuläre Muskelmasse und Fibrosedetektion in LGE-MRT bzw. LeMSCT ..	35
4.3 Myektomie bzw. Transkoronare Ablation der Septumhypertrophie.....	37
4.4 Antiproliferative medikamentöse Therapiestrategien .....	38
4.5 Vorhofflimmern .....	38
4.6 Stadien der Dyspnoe gemäß NYHA-Klassifikation.....	39
4.7 Risikostratifizierung .....	40
4.8 Koronare Herzkrankheit, obstruktives Schlafapnoe Syndrom, chronische Niereninsuffizienz .....	40
4.8.1 Koronare Herzkrankheit.....	41
4.8.2 Obstruktives Schlafapnoesyndrom.....	42
4.8.3 Chronische Niereninsuffizienz .....	42
4.9. Ausblick .....	42
<b>5 Zusammenfassung</b>	<b>44</b>
<b>6 Literaturverzeichnis</b>	<b>45</b>
<b>7 Anhang</b>	<b>57</b>
7.1 Abbildungsverzeichnis .....	57
7.2 Tabellenverzeichnis.....	57
<b>Danksagung</b>	<b>60</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>62</b>
<b>Veröffentlichungen</b>	<b>63</b>

## Abkürzungsverzeichnis

2D-TTE	Zweidimensionale transthorakale Echokardiographie
3D-TTE	Dreidimensionale transthorakale Echokardiographie
AK	Antikörper
AP	Angina pectoris
ARB	Angiotensin-Rezeptor-Blocker
ASE	<i>American Society of Echocardiography</i>
CITP	Carboxy-terminales Telozeptid des Kollagentyp-I
CIITP	Carboxy-terminales Telozeptid des Kollagentyp-III
cw	<i>continuous wave</i> , kontinuierlicher Doppler
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
EACVI	<i>European Association of Cardiovascular Imaging</i>
EAE	<i>European Association of Echocardiography</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiographie
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>
EZM	Extrazellularmatrix
FISP	<i>Fast Imaging with Steady-State Precession</i>
g	Zentrifugalkraft, Normalerdschwerebeschleunigung
HCM	Hypertrophe Kardiomyopathie

## Abkürzungsverzeichnis

HRP	Merrettichperoxidase
HFpEF	Diastolische Herzinsuffizienz, <i>heartfailure with preserved ejection fraction</i>
HFrfEF	Systolische Herzinsuffizienz, <i>heartfailure with reduced ejection fraction</i>
ICD	Implantierbarer Cardioverter-Defibrillator
IF	Intramyokardiale Fibrose
Ig	Immunoglobulin
IVS	Interventrikularseptum
HRST	Herzrhythmusstörungen
KHK	Koronare Herzkrankheit
LA	Linkes Atrium; linksatrial
LeMSCT	<i>Late Enhancement</i> Mehrschicht Computertomographie
LGE-MRT	<i>Late Gadolinium Enhancement</i> Magnetresonanztomographie
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
LVMM	Linksventrikuläre Muskelmasse
LVMMi	Linksventrikulärer Muskelmasseindex
LVOT	Linksventrikulärer Ausflusstrakt
LVOTO	Linksventrikuläre Ausflusstraktobstruktion
MKI	Mitralklappeninsuffizienz
MRA	Mineralokortikoidrezeptor-Antagonist
MRT	Magnetresonanztomographie
MSCT	Mehrschicht-Computertomographie
NI	Niereninsuffizienz



nsVT	<i>non-sustained</i> , nicht-anhaltende ventrikuläre Tachykardie
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
OPN	Osteopontin
OSAS	Obstruktives Schlaf-Apnoe Syndrom
PICP	Carboxyterminales Propeptid des Kollagentyp-I
PINP	Aminoterninales Propeptid des Kollagentyp-I
PIIICP	Carboxyterminales Propeptid des Kollagentyp-III
PIIINP	Aminoxyterminales Propeptid des Kollagentyp-III
PM	<i>Pacemaker</i> , Schrittmacher
PSIR	<i>Phase-sensitive inversion reconstruction</i>
pw	<i>pulsed wave</i> , gepulster Doppler
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SAM	Systolic Anterior Motion
SCD	<i>Sudden Cardiac Death</i> , Plötzlicher Herztod
SF	Systolische Funktion
SSPF	<i>Steady-state-precision-free</i>
TASH	Transkoronare Ablation der Septumhypertrophie
TDI	<i>Tissue-Doppler imaging</i> , Gewebedoppler
TMB	Tetramethylbenzidin
VFib	Ventrikuläre Fibrillationen
VHF	Vorhofflimmern
VT	Ventrikuläre Tachykardie



# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie

Die Hypertrophe Kardiomyopathie [HCM] ist mit einer weltweiten Prävalenz von 0.2%<sup>1</sup> die häufigste genetische Herzerkrankung. Sie tritt in allen Ländern auf<sup>2</sup>, betrifft beide Geschlechter<sup>3</sup> und zeigt bei vielen Ethnien ähnliche Geno- sowie Phänotypen mit entsprechender Klinik<sup>4-6</sup>. Obwohl die HCM mit einer Gesamtmortalität von etwa 1% pro Jahr der Grundmortalität amerikanischer Erwachsener entspricht<sup>3,5-7</sup>, ist sie die häufigste Ursache eines plötzlichen Todes bei Personen unter 35 Jahren<sup>6-11</sup> sowie bei Leistungssportlern in den USA<sup>12</sup>. Zudem sind Untergruppen beschrieben, welche eine Mortalität von 4-5% pro Jahr zeigten<sup>7,13,14</sup>.

## 1.2 Morphologie

Ursache der HCM sind Genmutationen, von denen etwa 900 verschiedene in über 20 Genen bekannt sind<sup>11</sup>. Diese Gene kodieren für kontraktile Myofilamentproteine als Teile des myokardialen Sarkomers oder dessen Z-Scheibe<sup>15,16</sup>.

Morphologisches Hauptcharakteristikum der HCM ist die überwiegend asymmetrisch-konzentrische Hypertrophie des meist linksventrikulären Myokards. Definitionsgemäß kann diese nicht als sekundär zu einer anderen Grunderkrankung wie der arteriellen Hypertonie, Aortenklappenstenose oder durch Speichererkrankungen wie Amyloidose etc. erklärt werden<sup>7,13,17</sup>. Hauptmanifestationsbereich und Ausprägung dieser Hypertrophie zeigen eine hohe Heterogenität<sup>7,13,14</sup>. Am häufigsten ist das Interventrikularseptum betroffen<sup>18</sup>, vorrangig am Konfluenz der anterioren freien Wand und des anterioren Septums<sup>19</sup>. Im Mittel liegt die apparativ gemessene transmurale Hypertrophie bei 21-22 mm<sup>7,14,18,19</sup>. Es zeigen sich nur geringfügig von Normalbefunden (<12 mm) abweichende Werte von 13-15 mm<sup>20</sup> bis hin zu Vergrößerungen von 60 mm<sup>7,18,19</sup>. Während auch der rechte Ventrikel betroffen sein kann<sup>21</sup>, sind mittels Bildgebung darstellbare Formen mit diffuser Hypertrophie und normaler Muskelmasse bekannt<sup>19</sup>.

Eine septale Hypertrophie führt im Bereich des linksventrikulären Ausflusstraktes [LVOT] zu einer intrakavitären Flussbeschleunigung, welche durch den sogenannten Venturi-Effekt einen Unterdruck auf die Mitralklappensegel ausübt und diese in Richtung

Interventrikularseptum [IVS] zieht. Dieses Phänomen wird als *systolic-anterior-motion* [SAM]-Phänomen der Mitralklappe [MK] bezeichnet und führt zu deren Insuffizienz. Verstärkt werden kann dieses mechanisches Ausstromhindernis durch einen zusätzlichen *drag-effect*, welcher die MK-Segel an das IVS anlagert<sup>13,22</sup>. Kausal hierfür sind fehlinserierende Papillarmuskeln, welche zu einer mechanischen Apposition der MK-Segel an das IVS führen<sup>23,24</sup>. Diese morphologischen Pathologien resultieren in einer Obstruktion der linksventrikulären Ausflussbahn [LVOTO]. Sie liegt bei etwa zwei Dritteln aller Patienten in Ruhe bzw. unter Provokation durch z.B. ein Valsalva-Manöver vor<sup>25</sup>. Folgen sind erhöhte linksventrikuläre Drücke sowie die daraus resultierende, myokardiale Hypertrophie. Im Verlauf entsteht Ischämie-bedingt vermehrt intramyokardiale Fibrose [IF]<sup>22,25</sup>. Das Ausmaß der LVOTO beeinflusst entscheidend die Prognose der HCM und ist ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten eines plötzlichen Herztodes [SCD]<sup>25</sup>. Der einheitliche Terminus HCM umfasst beide Formen dieser definierten Erkrankung<sup>26</sup>.

Die Diagnose HCM schließt auch Patienten ein, bei denen trotz nachgewiesener Genmutation keine Hypertrophie des Myokards aufzeigbar ist<sup>27,28</sup>. Für diese Gruppe der Genotyp-positiven/Phänotyp-negativen HCMs werden diagnostische Auffälligkeiten in der Elektrokardiographie [EKG]<sup>27</sup>, Veränderungen an der MK<sup>29</sup>, ein positiver Fibrosenachweis im Sinne von *late Gadolinium enhancement* [LGE] in der kardialen Magnetresonanztomographie [MRT]<sup>30</sup>, eine Erhöhung verschiedener Biomarker der Kollagensynthese<sup>31</sup> sowie eine subklinische diastolische Herzinsuffizienz (im Folgenden als *heartfailure with preserved ejection fraction* [HFpEF] bezeichnet)<sup>28</sup> beschrieben. Auch in dieser Patientengruppe sind Fälle von SCD dokumentiert<sup>32</sup>.

Die durch Mutation veränderten Proteine des myokardialen Sarkomers bewirken über verschiedene Mechanismen eine Versteifung vornehmlich des linken Ventrikels. Dieses führt zu einer gestörten Diastole bei zunächst unbeeinträchtigter systolischer Funktion<sup>33,34</sup>. Es wird davon ausgegangen, dass die Hypertrophie einen Kompensationsmechanismus darstellt, um einer auf mikroskopischer Ebene bedingten Kontraktilitätsstörung entgegen zu wirken<sup>34,35</sup>. Diese mikroskopischen Charakteristika sind eine Fibrosierung der interstitiellen Matrix, eine Verdickung und die pathognomonisch wirbelförmige Fehlanordnung der Myozyten, dem sogenannten *myocardial dysarray*<sup>7,17</sup>. Änderungen auf molekularer Ebene in der Calciumsensitivität der kontraktilen Elemente des Myokards sowie eine eingeschränkte Energiehomöostase beeinflussen ebenfalls die Kontraktilität<sup>11</sup>.

## Einleitung

Die myokardiale Ersatzfibrose (*replacement scar*) entsteht nach heutigem Kenntnisstand als Folge der Apoptose von Kardiomyozyten. Diese folgt generell eher einem fokalen bzw. flächenförmigen Verteilungsmuster<sup>36</sup>. Die Entstehung der interstitiellen Fibrose hingegen wird mit dem veränderten Kollagenumsatz und dem daraus resultierenden Fehlverhältnis von Synthese und Abbau der kardialen Extrazellulärmatrix [EZM] erklärt. Sie tritt vor allem fleckenförmig bzw. diffus auf<sup>31,37</sup>.

Ursprungszellen der IF bei der HCM sind Fibroblasten bzw. deren aktive Form, die Myofibroblasten<sup>38-40</sup>. Diese produzieren unter dem Einfluss komplexer Signalkaskaden die Substanz der EZM, in erster Linie Kollagen Typ I und III<sup>41-43</sup>.

Mikrovaskulär bedingte Ischämie, Hypertrophie der Myozyten sowie ein direkter schädigender Einfluss der durch Mutation veränderten Sarkomere bedingen eine frühzeitige Apoptose der Myozyten. Das Myokard wird als Folge dessen durch Expansion der EZM fibrotisch umstrukturiert<sup>36,44,45</sup>. Auch in der frühen, subklinischen Phase der Erkrankung, in der eine myokardiale Hypertrophie noch nicht ausgeprägt ist, lässt sich bereits eine fibrotische Umstrukturierung der EZM nachweisen. In verschiedenen Tiermodellen<sup>46,47</sup> und in einer Gruppe geno-positiver/pheno-negativer Patienten<sup>31</sup> konnten eine vermehrte Aktivierung von Genabschnitten, welche für Strukturproteine der EZM kodieren, sowie erhöhte Marker der Kollagensynthese gemessen werden.

## 1.3 Klinik

Die klinische Symptomatik der HCM ist sehr variabel und kann in allen Altersgruppen auftreten<sup>7,22,25,48</sup>. Der Großteil der Patienten zeigt sich bei uneingeschränkter Lebenserwartung asymptomatisch bzw. bedarf keiner invasiven Therapie<sup>4,7,9,10,22</sup>. Patienten, welche Symptome entwickeln, sind meist Erwachsene mittleren Alters und präsentieren das klinische Bild einer Herzinsuffizienz<sup>3,7,14,20,22</sup>. Dabei ist das Beschwerdebild vor allem durch Dyspnoe mit oder ohne belastungsabhängiger Angina pectoris [AP] sowie Palpitationen, Schwindel und dem Auftreten von Synkopen gekennzeichnet<sup>13,49</sup>. Diese Symptomatik kann sich im Verlauf der Krankheit bei erhaltener systolischer Funktion progredient zeigen<sup>7,20,22</sup>.

Bei etwa 5-10% der Patienten entsteht ein Endstadium, welches durch Entwicklung einer systolischen Herzinsuffizienz (im Folgenden als *heartfailure with reduced ejection fraction* [HFrEF] bezeichnet, definiert als eine auf <50% herabgesetzte Ejektionsfraktion [EF]), einer

Abnahme der myokardialen Wanddicke und Dilatation der Ventrikel sowie einer ausgeprägten, intramuralen Fibrose gekennzeichnet ist<sup>22,48</sup>.

Vorhofflimmern [VHF] in seinen unterschiedlichen Formen ist die häufigste Herzrhythmusstörung [HRST] bei HCM-Patienten<sup>49</sup> und tritt hier etwa vier bis sechsmal häufiger auf als in der Normalbevölkerung<sup>50,51</sup>. Etwa 20% aller HCM Patienten, vor allem Patienten im Alter über 50 Jahre, sind hiervon betroffen<sup>52</sup>. Vorhofflimmern trägt zu einer Herzinsuffizienzsymptomatik bei und ist mit einem erhöhten Thrombembolierisiko assoziiert, was bei HCM sowohl Morbidität als auch Mortalität erhöht<sup>5,52,53</sup>.

Die dramatischste und zudem wenig vorhersehbare klinische Manifestation ist der SCD<sup>6-8,12,20,22</sup>. Er stellt bei Personen unter 35 Jahren sowie amerikanischen Leistungssportlern häufig die klinische Erstmanifestation der HCM dar<sup>7,8,14</sup>. Es sind Fälle von SCD in Abwesenheit von Hypertrophie des Myokards sowie konventioneller Risikofaktoren beschrieben<sup>16,32</sup>. Als zugrundeliegend gelten maligne HRST, in erster Linie ventrikuläre Tachykardien [VT] und Kammerflimmern [VFib], die pathophysiologisch zu großen Teilen *micro reentries* als Folge von IF zugeschrieben werden<sup>54</sup>.

## 1.4 Diagnostik

In 75-95% aller Fälle zeigen Patienten mit HCM EKG-Auffälligkeiten, in aller Regel Hinweise einer Linksherzhypertrophie<sup>15</sup>. Auch ein Linksschenkel- oder linksanteriorer Hemiblock ist typisch<sup>13</sup>.

Bei Vorliegen einer LVOTO lässt sich oft ein Systolikum parasternal links vom crescendo-decrescendo Typ auskultieren, welches sich z.B. durch ein Valsalva-Manöver steigern bzw. in Hochstellung verringern lässt<sup>13,49</sup>.

Die Diagnosestellung der HCM erfolgt meist durch die zweidimensionale transthorakale Echokardiographie [TTE]<sup>1,5,14,18,49</sup>, die zunehmend durch eine kardiale MRT ergänzt wird<sup>19,55</sup>. Gemäß internationalen Standards<sup>49</sup> werden hier morphologische und funktionelle Charakteristika wie z.B. die häufige HFpEF bestimmt<sup>1,14,18,19,49</sup>. Der Nachweis einer LVOTO sowie eines SAM-Phänomens erfolgen in der TTE. Zudem sind TTE-Messungen das Mittel der Wahl für die Bestimmung der diastolischen Funktion des linken Ventrikels<sup>23,24,56</sup>.

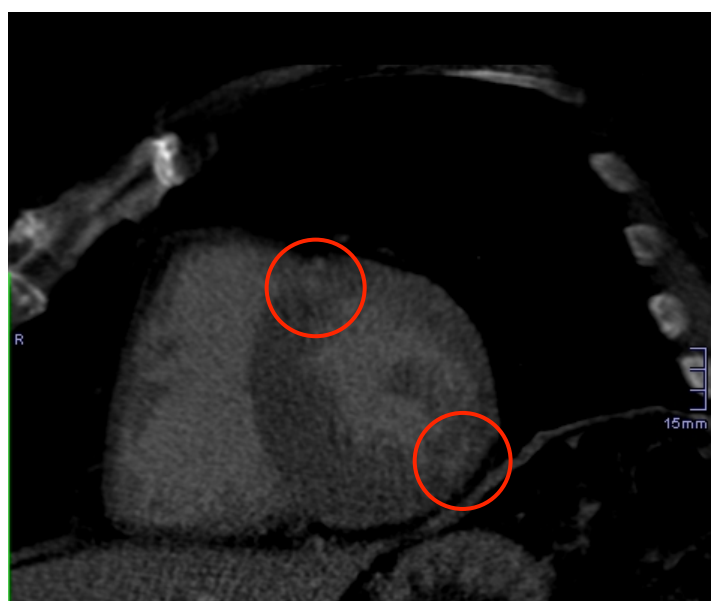
Die kardiale MRT gewährleistet umfassende Informationen zu Morphologie, systolischer Ventrikelfunktion sowie über das Myokard und die Verteilung und Ausprägung der IF<sup>57</sup>. Die

## Einleitung

Daten werden in *cine*-Sequenzen nach dem Prinzip der *steady-state-precision-free* [SSPF] Methode generiert<sup>49</sup>. Bei guten Schallbedingungen und somit echokardiographisch lokalisierbarer Hypertrophiebezirke liefern kardiale MRT und TTE gleichwertige Informationen zu Ventrikelfunktion und kardialer Morphologie<sup>58</sup>. Sind die Schallbedingungen eingeschränkt oder liegt die Hypertrophie in Bereichen, die echokardiographisch schlecht einstellbar sind, ist die kardiale MRT der TTE überlegen<sup>55</sup>. Eine Kontrastmittel-gestützte MRT mit auf Gadolinium-basierenden Reagenzien ist zudem in der Lage, eine IF valide zu lokalisieren und zu quantifizieren<sup>59-62</sup>. Dabei beruht die Detektion auf dem Prinzip verzögerter Anreicherung des Kontrastmittels Gadolinium (LGE) in fibrotischen Arealen. Ein *late Gadolinium enhancement* zeigt sich bei etwa der Hälfte aller Patienten positiv<sup>59,62</sup>. In der Patientengruppe mit terminaler HCM lässt sich LGE fast immer nachweisen<sup>48</sup>. Bekannt ist ein Zusammenhang zwischen Myokardhypertrophie und dem Auftreten von IF (repräsentiert als LGE) in der kardialen MRT. Dabei stellt sich LGE in der Regel fokal und/oder flächenförmig vorzugsweise in Hypertrophiebezirken dar<sup>19,61,62</sup>. Zudem konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit LGE durchschnittlich mehr Risikofaktoren für einen SCD vorlagen, als bei Patienten ohne LGE<sup>60,63</sup>. Gemäß aktueller Empfehlungen sind diese Risikofaktoren eine familiäre Disposition, das Auftreten nicht-anhaltender VT [nsVT] im Langzeit-EKG, rezidivierende Synkopen, ein pathologischer Blutdruckabfall unter Belastung sowie eine massive Septumhypertrophie auf >30 mm. Liegen vermehrt Risikofaktoren bei einem HCM-Patienten vor, ist die Konsequenz die primärprophylaktische ICD-Implantation<sup>49</sup>. Mit der aktuellen Datenlage verdichten sich Hinweise für einen engen Zusammenhang zwischen einerseits qualitativem und quantitativem LGE-Nachweis und andererseits dem Auftreten ventrikulärer Arrhythmien und SCD. Eine theoretische Grundlage bildet die Ausbildung von IF als morphologisches Korrelat des LGE und Hauptsubstrat für maligne Rhythmusstörungen mit Todesfolge<sup>61,64</sup>. Der Zusammenhang des LGE-Ausmaßes<sup>65</sup> bzw. autoptisch bestimmter Fibrose<sup>66</sup> und dem Auftreten von VHF wurde für HCM-Patienten ebenfalls beschrieben.



**Abbildung 1: Kardiale MRT – basolaterales LGE im Sinne eines Fibrosenachweises (rote Umrandung)**



**Abbildung 2: Kardio CT – mitventrikuläres *late enhancement* in loco typico an der Insertionsstelle des rechten Ventrikels und im Bereich der Lateralwand (rote Umrandungen)**

Auch für die kardiale *late enhancement* Mehrschicht-Computertomographie [LeMSCT] konnte –mit signifikant ungünstigerem Signal-zu-Rausch-Verhältnis – gezeigt werden, dass sich IF durch Akkumulation von jodhaltigem Kontrastmittel demarkieren lässt<sup>67</sup>. Bei etwa 20% der Patienten mit HCM tritt begleitend eine koronare Herzerkrankung [KHK] auf<sup>68</sup>. Zur Diagnostik steht heute neben der invasiven die nichtinvasive Koronarangiographie mittels Mehrschicht -Computertomographie [MSCT] zur Verfügung<sup>7</sup>.



## Einleitung

Hämodynamische Messungen im Rahmen von Links- und Rechtsherzkatheter kommen zwecks Indikationsstellung zur interventionellen oder operativen Therapie vorrangig zum Einsatz, insbesondere vor Herztransplantationen. Während die transkoronare Septumablation [TASH] einen interventionellen Ansatz bedeutet, stellt die Myektomie ein rein operatives Verfahren der Septumablation dar<sup>69,70</sup>. Bei zu erwägender TASH dient eine Koronarangiographie dazu, den relevanten Septalast zu identifizieren<sup>71</sup>. Bei Verdacht auf sekundäre HCM bzw. zum Ausschluss von Grunderkrankungen wie der kardialen Amyloidose oder der Morbus Fabry können im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung Myokardbiopsien entnommen werden<sup>72</sup>.

## 1.5 Biomarker

Änderungen auf molekularer Ebene im Umsatz der EZM bedingen die Hypertrophie sowie IF bei HCM<sup>31,37</sup>. Marker der Kollagensynthese können helfen die fibrotische Umstrukturierung der kardialen EZM zu quantifizieren<sup>73</sup> und korrelieren mit histologisch bestimmten Kollagenablagerungen<sup>74</sup>. Carboxyterminales Propeptid des Kollagentyp-I bzw. -III [PICP/PIIICP] sowie aminoternales Propeptid des Kollagentyp-I bzw. -III [PINP/PIIINP] als Kollagensynthesemarker und carboxyterminales Telopeptid des Kollagentyp-I bzw. -III [CITP/CIITP] als Marker der Kollagendegradation bilden somit putativ geeignete Biomarker in der Evaluation der Fibrose in der HCM<sup>75</sup>. Bekannt ist der Zusammenhang zwischen der Erhöhung von Synthesemarkern und dem Auftreten einer HCM. Bei gleichzeitiger Erniedrigung der Degradationsmarker besteht eine Assoziation zur Entwicklung einer HFpEF<sup>37,76</sup>. Die Validität dieser Marker wird jedoch kontrovers diskutiert<sup>77</sup>.

Wichtige funktionelle Bestandteile in der EZM stellen die Matrixzellulärproteine [MZP] dar. Sie üben regulatorische Funktionen über oberflächliche Zellrezeptoren aus und interagieren mit strukturellen sowie löslichen Proteinen. Bei einer Verletzung des Myokards werden sie vermehrt synthetisiert<sup>78</sup>. Zur Gruppe der MZP gehört das glykosylierte Phosphoprotein Osteopontin [OPN], welches in verschiedensten Geweben und in sezernierter Form in Körperflüssigkeiten nachweisbar ist<sup>79,80</sup>. Es verhält sich hydrophil und hat bei einem hohen Anteil an sauren Aminosäuren einen isoelektrischen Punkt von ~3.5. Osteopontin kann posttranslational modifiziert werden und zeigt molekulare Massen von 45 bis 75 kDa in der SDS-PAGE, bei einem kalkulierten Gewicht von ~35 kDa<sup>81</sup>. Es kommt in sezernierter Form als immobiles Molekül in der EZM vor und kann zudem als löslicher Faktor Zytokin-ähnlich

wirken<sup>82</sup>. Über eine RGD (Arginin-Glycin-Aspartat)-<sup>83,84</sup> bzw. eine nach Spaltung durch Thrombin freiliegende SVVYGLR (Serin-Valin-Valin-Tyrosin-Glycin-Leucin-Arginin)-Domäne<sup>85</sup> kann OPN mit verschiedenen Integrinen interagieren, wie den auf myokardialen Zellen exprimierten beta-1-Integrinen<sup>86</sup> und CD44-Rezeptoren<sup>87,88</sup>. Von kardialen Fibroblasten<sup>89</sup> und Endothelzellen<sup>90</sup> sowie Myozyten<sup>91,92</sup> wird OPN physiologisch mit niedrigen Basalspiegeln exprimiert<sup>81</sup>. Eine deutliche Erhöhung von OPN wurde in einer Reihe myokardialer Erkrankungen beobachtet<sup>79,93</sup>. Es gilt als ein zentraler Faktor in der Aktivierung von Myofibroblasten in der Entstehung von IF<sup>94</sup>. Eine erhöhte OPN-Expression in Kardiomyozyten geht zudem mit einer kardiomyozytären Hypertrophie einher<sup>91</sup>. Für die Entzündungsmediatoren TNF- $\alpha$  und IL-1b sowie für die profibrotischen Zytokine Ang-II und TGF- $\beta$  wurde gezeigt, dass diese eine verstärkte OPN-Expression induzieren<sup>95</sup>. OPN gilt daher als ein Schlüsselmolekül in der Entstehung interstitieller Fibrose<sup>96,97</sup>. Eine erhöhte Nachweisbarkeit in Kardiomyozyten ist mit einer vermehrten Apoptose dieser sowie myokardialer Dysfunktion assoziiert<sup>88,98,99</sup>. Erhöht messbares, kardiales OPN, aus Kardiomyozyten bzw. Fibroblasten stammend, geht mit dem Einsetzen<sup>100</sup> sowie der Progression<sup>101</sup> einer Herzinsuffizienz einher. Das Herz konnte als Ursprung von plasmatisch gemessenem, erhöhtem OPN nach einem Myokardinfarkt bestimmt werden<sup>102</sup>. Osteopontin korreliert mit dem Ausmaß einer Dysfunktion des linken Ventrikels [LV] sowie dem LV-Volumen nach einem Myokardinfarkt<sup>103</sup>. Außerdem belegen Daten, dass OPN-Plasmaspiegel bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, Ischämie-bedingt bzw. bei dilatativer Kardiomyopathie [DCM], signifikant erhöht vorliegen. Die Höhe des Spiegels korrelierte signifikant-positiv mit der klinischen Beeinträchtigung<sup>104</sup>. OPN zeigte sich hier zusätzlich als unabhängiger Prädiktor für eine Verschlechterung der Prognose sowie den Tod der Patienten. Zusammenfassend lassen diese Studien den Schluss zu, dass eine OPN-Erhöhung, in Kardiomyozyten bzw. (Myo-) Fibroblasten sowie im Blutplasma bestimmbar, mit einer myokardialen Umstrukturierung und Dysfunktion einhergeht.

Die beschriebenen Erkrankungen zeigen pathophysiologische Gemeinsamkeiten zur HCM, wie vor allem Hypertrophie und frühzeitige Apoptose von Kardiomyozyten sowie der konsekutiven IF. Es wird somit angenommen, dass OPN auch in der Pathogenese der HCM eine Schlüsselfunktion einnimmt.

### **1.6 Zielsetzung/Pilotstudie**

Im Sinne eines Pilotprojektes erstmals untersucht wird im Rahmen der vorgelegten Arbeit ein möglicher Zusammenhang zwischen gemessenen OPN-Blutplasmaspiegeln und verschiedenen – gemäß aktueller ESC-Empfehlungen für Diagnostik und Risikostratifizierung etablierten – HCM-Kriterien der kardialen Bildgebung. Hieraus ergibt sich die Hypothese, dass OPN bei HCM-Patienten im Plasma erhöht vorliegt und die Höhe des Markers mit dem Schweregrad der Erkrankung positiv korreliert. Aufgrund der bereits bewiesenen, oben aufgeführten, Zusammenhänge von einerseits OPN als robustem Parameter und andererseits Fibroseentstehung fahndeten wir zudem nach Hinweisen dafür, dass OPN im Rahmen einer kardiovaskulären Risikostratifizierung ein prädikativer Wert zukommen könnte.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

Eingeschlossen wurden Patienten, deren Diagnose HCM bereits gemäß aktueller Empfehlungen der *European Society of Cardiology* [ESC]<sup>49</sup> gesichert war. Den *good clinical practice*-Richtlinien entsprechend wurden im Vorfeld alle Studienteilnehmer ausführlich aufgeklärt. Die Einwilligung zur Studienteilnahme erfolgte schriftlich. Dem Beginn dieser Pilotstudie ging ein positives Votum vor einer unabhängigen Ethikkommission voraus. Zum Zeitpunkt der Einwilligung wurde neben einer routinemäßigen Blutentnahme die Dokumentation aller anamnestischer Daten (Beschwerdesymptomatik, Begleiterkrankungen, Hausmedikation) durchgeführt. Im Verlauf – im unmittelbaren Zusammenhang mit der kardialen Bildgebung – erfolgte eine zweite Blutentnahme, die der Bestimmung von OPN diente.

Die Kontrollgruppe bestand aus weder akut noch chronisch kranken, nicht-rauchenden Personen. Nach schriftlicher Einverständniserklärung erfolgte eine Blutentnahme sowie eine zweidimensionale-transthorakale Echokardiographie [2D-TTE] und ein EKG bei jedem einzelnen Probanden.

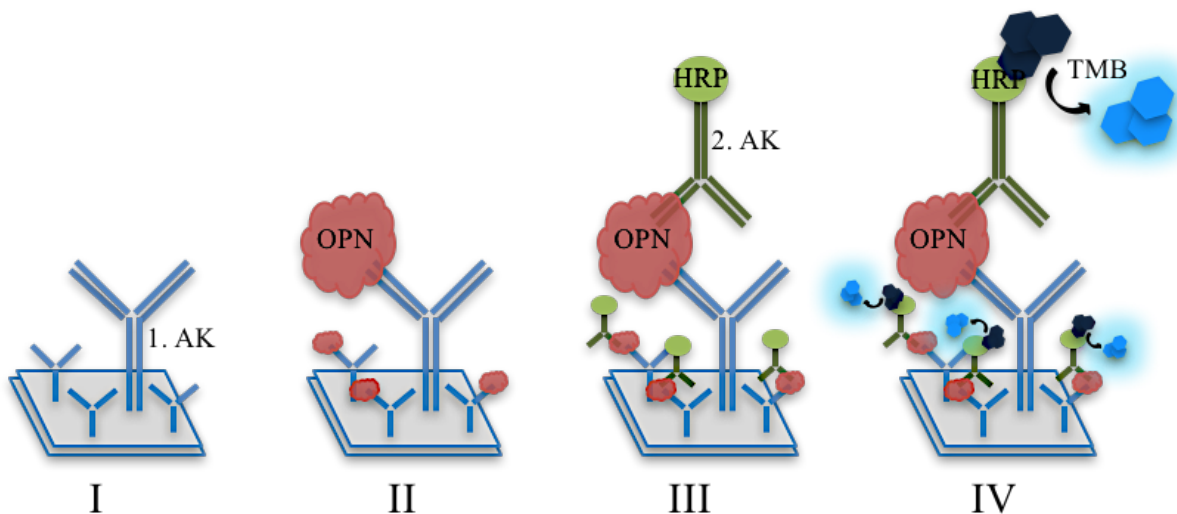
### 2.2 Methoden

#### 2.2.1 OPN-Messung

Die Bestimmung des Serumspiegels von OPN erfolgte aus Ethylendiamintetraessigsäure [EDTA]-Blutproben. Diese wurden nach Entnahme innerhalb von 30 Minuten bei 1000 x g für 10 Minuten bei einer Temperatur von 4 °C zentrifugiert. Jede Probe wurde teilportioniert und bei -80 °C eingefroren, da OPN bei höheren Temperaturen proteolytisch abgebaut wird<sup>104</sup>. Es wurde das *Sandwich-Antigen-Enzym-linked Immunosorbent Assay* [ELISA] *Human Osteopontin Assay Kit (L)* der Firma IBL International GmbH, Hamburg, Deutschland, verwendet. Der Schwellenwert zur Detektion von OPN liegt bei diesem Kit bei 5 ng/mL. Gemäß den Herstellerangaben wurden die Proben im Verhältnis 1:10 verdünnt und für eine Stunde bei 37 °C auf einer mit Anti-humanem-OPN Hasen-Immunglobulin G [IgG] *coating*-Antikörper [AK] besetzten Mikrotiterplatte inkubiert. Nach einem ersten Waschvorgang wurden 100 µL mit Meerrettichperoxidase [HRP] konjugiertem Anti-

## Material und Methoden

humanem-OPN Maus-IgG hinzu pipettiert und weitere 30 Minuten bei 4 °C inkubiert. Nach weiteren Waschvorgängen wurde das Chromogen Tetramethylbenzidin [TMB] hinzugefügt und erneut für 30 Minuten unter Lichtausschluss inkubiert. Nach Hinzufügen von 100 µL Stopperlösung (1N-Schwefelsäure) wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm in einem automatischen ELISA-Mikroplatten-reader (Tecan *Spectra*, Crailsheim, Deutschland) gemessen. Intra- sowie Interassay Variationskoeffizient lagen bei 5% bzw. 10%. Patienten- bzw. konditionsspezifische Daten standen dem ausführenden Untersucher nicht zur Verfügung.



**Abbildung 3: Schematischer Ablauf einer Sandwich-ELISA**

(I) An Mikrotiterplatte gebundenes Anti-humanes-OPN Hasen IgG [1. AK]; (II) An 1. AK gebundenes OPN; (III) Bindung des mit HRP konjugiertem Anti-humanem-OPN Maus-IgG [2. AK]; (IV) Umsatz des Chromogens TMB durch die HRP

### 2.2.2 Zweidimensionale transthorakale Echokardiographie

Die 2D-TTE erfolgte mit den Geräten CX 50 (Philips Healthcare, Best, Niederlande) und Vivid 7 (GE Healthcare, Berlin, Deutschland). Alle Untersuchungen erfolgten in Linksseitenlagerung der Patienten. Die berücksichtigten Standardeinstellungen (Harmonische Bildgebung, Grenzgeschwindigkeit des *pulsed wave* [pw]-Dopplers  $v_{Nyquist}$  50-60 cm/s sowie ein Schallkopf mit einer Bandbreite von 1.5-4.0 MHz), Standardebenen und bestimmten Standardparameter erfolgten gemäß aktueller Empfehlungen der *European Association of Echocardiography* [EAE]<sup>105</sup>. Die dabei gewonnenen Daten wurden digital als Schleifensequenzen und Einzelbilder archiviert. Der Nachweis einer LVOTO erfolgt mittels

*continuous wave* [cw] Dopplermessung des intrakavitären Druckgradienten<sup>56</sup>. Der Schwellenwert zum Nachweis einer LVOTO im cw-Mode lag bei  $\geq 50$  mmHg in Ruhe bzw. unter Provokation (Valsalva-Manöver)<sup>22</sup>. Mittels TTE wird das häufig einhergehende SAM-Phänomen dargestellt<sup>23,24,35</sup>. In der klinischen Routine ist neben pw-Dopplermessungen ebenfalls das *Tissue Doppler Imaging* [TDI] die Methode der Wahl für die Bestimmung der diastolischen Funktion des LV<sup>56</sup>. Die Evaluation der diastolischen LV-Funktion erfolgte nach den Empfehlungen von Paulus *et al.*<sup>106</sup>. Die Einteilung einer HFpEF in vier Stadien (null bis drei) erfolgte aus echokardiographischen Parametern gemäß des Konzeptes nach Nishimura und Tajik<sup>107</sup>. Hierfür erfolgte die Bestimmung der Indices *early* [E]- (passive Ventrikelfüllungsphase) zu *atrial* [A]- (Ventrikelfüllung durch Vorhofkontraktion) Welle in pw- bzw. TDI-Technik. Die im TDI-Modus ermittelten Werte wurden mit E' bzw. A' gekennzeichnet.

**Tabelle 1: Einteilung der HFpEF Stadien nach Nishimura und Tajik**

TTE-Mode	Normale Funktion	HFpEF I	HFpEF II	HFpEF III
<b>pw</b>	E>A	A>E, 2:1	E>A	E>A, 3:2
<b>TDI</b>	E<E'	E/E' <8	E/E' 8-15	E/E' >15

Aus den im M-Mode ermittelten, morphologischen Parametern des LV wurde die linksventrikuläre Muskelmasse [LVMM] in Gramm [g] unter Anwendung der Formel nach Maßgabe der *American Society of Echocardiography* [ASE] bzw. *European Association of Cardiovascular Imaging* [EACVI]<sup>108,109</sup> berechnet. Um physiologische Einflüsse zur objektiven Vergleichbarkeit zu berücksichtigen, wurde anhand dieser Maßgaben die LVMM in Bezug zur Körperoberfläche gesetzt und als linksventrikulärer Muskelmasseindex [LVMMi] in der Einheit g/m<sup>2</sup> angegeben. Getrennt nach Geschlecht wurde der LVMMi in vier Gruppen eingeteilt. Dabei galt Gruppe 0 als normwertig, 1 als mild, 2 als moderat und 3 als massiv von der Norm abweichend<sup>108,109</sup>.

### 2.2.3 Late Enhancement Mehrschicht Computertomographie

Zur Darstellung und Evaluation des linken Ventrikels sowie zur Detektion der IF in der LeMSCT wurde gemäß der aktuellen Empfehlung von Abbbara *et al.* für die *Society of Cardiovascular Computed Tomography* [SCCT]<sup>110</sup> ein 64-Zeilen CT (Sensation 64<sup>TM</sup>, Fa. Siemens Healthcare, Forchheim, Deutschland) genutzt.

Die Aufnahmen erfolgten in Rückenlagerung. Jeder Patient erhielt einen 20 Gauge Venenverweilkatheter in einer antecubitalen Vene zur Applikation des Kontrastmittels Iopromid (Ultravist<sup>TM</sup> 370; 769 mg/mL, Bayer Healthcare, Deutschland). Eine Untersuchung wurde sieben Minuten nach Applikation von 150 mL des Kontrastmittelbolus gestartet.

Bei einer Kollimation von 64x0.6 mm und einem Inkrement von 0.5 mm ergab sich ein Pitch/feed *per rotation* von 0.2. Die Bildmatrix maß 512x512 Bildpunkte. Die Dauer einer Rotation (*gantry speed*) betrug 375 ms. Bei einer Röhrenspannung (*tube voltage*) von 80 kV ergab sich ein Röhrenstrom (*tube current*) von 614.2±96.4 mAs<sup>67</sup>. Bei einem Dosis-Längen-Produkt von 201.4±36.5 mGy und einem Konversionsfaktor von 0.014 ergab sich eine Effektive Dosis von 2.8±0.5 mSv<sup>111</sup>.

Nach aktuellen Empfehlungen der SCCT von Halliburton *et al.*<sup>111</sup> wurde zur Reduktion der Strahlendosis neben dem CARE-Dose-4D<sup>TM</sup> das Adaptive-ECG-Pulsing<sup>TM</sup> (Systeme der Firma Siemens Medical Solutions, Forchheim, Deutschland) genutzt.

Die Datenaufzeichnung erfolgte EKG-synchron. Dies ermöglichte eine phasenselektive Darstellung endsystolisch bei Erreichen von 30% eines RR-Intervalls (im Median, min. 20%, max. 50%) bzw. enddiastolisch bei 90% (im Median, min. 70%, max. 100%) sowie zur Detektion von Le mittdiastolisch bei 75% eines RR-Intervalls. Als Filter für die Rückprojektion wurde ein B26f *soft-convolution* Kernel angewendet. Die Nachverarbeitung der generierten Bilder (*Post processing*) erfolgte auf der Nachverarbeitungskonsole Leonardo<sup>TM</sup> (Siemens Medical Solutions, Forchheim, Deutschland)<sup>112</sup>.

Wie von Schulz-Menger *et al.*<sup>113</sup> beschrieben, wurden nach dem Prinzip der multiplanaren Reformation (MPR) 5 mm dicke Schichten zur Darstellung des linken Ventrikels ausgehend von der Herzbasis bis zum Apex in der kurzen kardialen Achse lücken- und überlappungslos erstellt<sup>67</sup>. Zur Quantifizierung von IF erfolgte eine Planimetrie zur Lokalisierung eines Le gemäß dieser multisegmentalen Einteilung des linken Ventrikels in 17 basale und medio-

ventrikuläre sowie apikale Segmente<sup>114</sup>. Die quantitative Bemessung erfolgte durch Konturierung der Areale, welche ein Le aufzeigten, im Sinne der manuellen Methode zur Quantifizierung<sup>67</sup>. Diese in der klinischen Routine übliche Methode weist im Vergleich zur *full width at half maximum*-Schwellenwert-Methode eine geringe Reproduzierbarkeit in der Quantifikation des LGE auf. In Bezug auf dessen Detektion haben beide Methoden eine ähnlich hohe Sensitivität<sup>113</sup>.

#### 2.2.4 Late Gadolinium Enhancement Magnetresonanztomographie

Die Evaluation der Ventrikelmorphologie und –funktion sowie die quantitative und qualitative Erfassung der IF erfolgte nach standardisiertem klinischen Protokoll für eine LGE-MRT<sup>67</sup>. Genutzt wurde für alle Patienten der MRT-Scanner Avanto (1.5 Tesla, 32-Kanal Spule, Fa. Siemens Healthcare, Erlangen, Deutschland).

Die Datenakquirierung erfolgte EKG-synchron. Zur Applikation des Kontrastmittels Gadopentetat-Dimeglumin (Magnevist<sup>TM</sup>; 0.15 mmol/kg Körpergewicht, Bayer Healthcare, Deutschland) erhielt jeder Patient einen Venenverweilkatheter (20 Gauge), der in eine antecubitale Vene gelegt wurde. Die Aufnahmen erfolgten in Rückenlagerung der Patienten.

Es erfolgten zunächst die Aufnahmen von Planungsbildern (*scout-images*) in langer Achse, Vier-Kammer-Blick und kurzer Achse zur exakten Positionsbestimmung des linken Ventrikels<sup>115</sup>. Funktion und Morphologie des linken Ventrikels wurde in *cine*-Sequenzen mit *pulse*-Sequenz in *True-Fast-Imaging-with-Steady-State-Precession* [FISP] (*time of echo* [TE] 1.1 ms, *time of repetition* [TR] 2.2 ms, Flip-Winkel 50 °) in langer und kurzer Achse in 4-6 mm Schichten evaluiert. Wie von Huber *et al.*<sup>116</sup> sowie Kellman *et al.*<sup>117</sup> beschrieben, wurde Fibrose-repräsentierendes LGE in True-FISP nach der *phase-sensitive-inversion-reconstruction* [PSIR] Methode dargestellt. Die Datenakquirierung in True-FISP (TE 1.5 ms, TR 3 ms) erfolgte 12 Minuten nach Injektion des Kontrastmittels, nach Applikation eines nicht-selektiven *inversion-recovery* Signals, über eine Zeit von 180 ms. Dieses geschah R-Zacken getriggert mittdiastolisch bei einem Flip-Winkel von 50 ° sowie nach jedem zweiten Herzschlag mitt- bis spätdiastolisch zur Erfassung eines Referenzsegmentes in True-FISP bei einem Flip-Winkel von etwa 8 °.

Die Evaluation von IF erfolgte qualitativ sowie quantitativ. Zunächst erfolgte eine Validierung der Datensätze im Hinblick auf das Auftreten eines LGE. Im Anschluss erfolgte



## Material und Methoden

die Berechnung der Fibrosemasse nach der manuellen Methode zur Quantifizierung (*Viewing*)<sup>113,114</sup>.

### 2.2.5 Statistische Auswertung

Die Planung und Durchführung der biometrischen Analysen erfolgte begleitend durch das Institut für medizinische Biometrie und Statistik des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Die statistische Analyse erfolgte mit der deutschsprachigen Version des Java™-basierten Statistikprogramms SPSS-Statistics™ Version 22.0.0.0, 64-bit, 2013, der Firma IBM, Armonk, USA. Zur Prüfung der Daten auf Normalverteilung dienten Q-Q-Diagramme sowie der Shapiro-Wilk-Test bzw. der Kolmogorow-Smirnow-Test. Normalverteilte Werte wurden mit dem zweiseitigen Student-t-Test, nichtparametrische Werte mit dem Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Korrelationen wurden bei parametrischen Daten nach Pearson, bei nicht-normalverteilten Werten nach Spearman-Rho, ermittelt. Ein p-Wert  $\leq 0.05$  wurde bei zweiseitigem Testen als signifikant betrachtet. Es wurden grundsätzlich die 95% Konfidenzintervalle [KI] sowie p-Werte bzw. asymptotische Signifikanzen bei 2-seitigem t-Test angegeben. Zur graphischen Darstellung von korrelierenden Daten wurden Regressionsgeraden genutzt und für signifikante Differenzen von Mittelwerten Box-Whiskers-Plots.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Patientenkollektiv

Im Rahmen dieses Projektes wurden insgesamt 41 Patienten eingeschlossen. Die ermittelten biometrischen, funktionellen und morphologischen Daten sind in *Tabelle 2* zusammengefasst. Sofern nicht anders angegeben (n-Wert hinter der jeweiligen Beobachtung), bezog sich die Anzahl der Beobachtung auf das Gesamtkollektiv (n=41).

**Tabelle 2: Biometrische, funktionelle und morphologische Daten der Patientengruppe**

<b>Biometrische Daten</b>	
Patienten	n=41
Frauen	n=22
Alter	62.41±14.74 Jahre (Median [MD]=64.00)
BMI	27.84±6.03 kg/m <sup>2</sup> (MD=26.45)
<b>Funktionelle Einschränkung (n=34)</b>	
NYHA I	n=14
NYHA II	n=13
NYHA III	n=7
NYHA IV	n=0
<b>Morphologie</b>	
TASH (n=37)	n=4
Operative Myektomie (n=37)	n=2
LVOTO (n=38)	n=15
SAM (n=38)	n=15
Apikale Hypertrophie (n=38)	n=6
ICD/PM (n=38)	n=10
<b>Echokardiographisch ermittelte Daten</b>	
Mitralklappeninsuffizienz (n=33)	Leichtgr.: n=23 Mittelgr.: n=6 Hochgr.: n=0
HFrEF (n=38)	Leichtgradig: n=6 Mittelgradig: n=1 Hochgradig: n=1
<b>Komorbiditäten</b>	
VHF (n=38)	n=13
Niereninsuffizienz (n=38)	n=7
KHK (n=38)	n=19
OSAS (n=37)	n=6
<b>Medikation (n=38)</b>	
ACE-Hemmer	n=12
AT1-Rezeptor-Antagonist	n=16
ACE-Hemmer und MRA	n=6

## Ergebnisse

### Risikostratifizierung bzgl. SCD

Familiäre Disposition (n=34)	n=1
Pathologischer Blutdruckabfall unter ergometrischer Belastung (n=18)	n=2
nsVT (n=24)	n=2
Synkopen (n=26)	n=2
Überlebter SCD (n=31)	n=1

### 3.2 Kontrollkollektiv

Die Kontrollgruppe bestand aus 16 gesunden, nichtrauchenden Personen. Die biometrischen Daten dieses Kollektives sind der *Tabelle 3* zu entnehmen.

**Tabelle 3: Biometrische Daten der Kontrollgruppe**  
**Biometrische Daten**

Kontrollen	n=16
Frauen	n=8
Alter	56.63±7.18 Jahre (MD=56.50)
BMI	25.63±6.82 kg/m <sup>2</sup> (MD=24.30)

### 3.3 Osteopontin im Zusammenhang anamnestischer und klinischer Parameter

In *Tabelle 4* sind die OPN-MWs mit SDs und MDs sowie die mittleren Ränge sowie Rangsummen der OPN-Werte für die Patientenkohorte, eingeteilt nach NYHA-Stadium, eingetragen.

**Tabelle 4: OPN-MWs mit SDs und MDs bzw. mittlere Ränge und Rangsummen der OPN-Werte nach NYHA-Stadien gruppiert**

NYHA Stadium	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	MD	Mittlerer Rang	Rangsumme
I	14	659.16 ± 265.19	616.95	14.33	172
II	13	629.40 ± 341.82	564.24	11.77	153
III	7	716.96 ± 230.22	795.67	11.71	82
IV	0	-	-	-	-

Die nicht-parametrischen Daten der Unterschiede der OPN-MWs zwischen der Gruppe NYHA II und I bzw. III sind in *Tabelle 5* aufgelistet. Analog hierzu wurden in *Tabelle 6* die parametrischen Daten der Unterschiede der OPN-MWs zwischen Gruppe NYHA I und III aufgeführt.

**Tabelle 5: Mann-Whitney-Us sowie Z-Werte und Signifikanz der OPN-MWs-Unterschiede zwischen Gruppe NYHA II und I bzw. III**

NYHA	Mann-Whitney-U	Z-Wert	Signifikanz
I vs. II	62.00	-0.87	0.384
III vs. II	37.00	-0.67	0.501

**Tabelle 6: Unterschied OPN-MW, 95% KI und p-Wert zwischen der Gruppe NYHA I und III**

NYHA	Unterschied OPN-MW [ng/mL]	[95% KI]	p
I vs. III	57.81	-312.07;196.45	0.638

In *Tabelle 7* wurden die n-Werte, OPN-MWs mit SDs und MDs der Patientenkohorte, eingeteilt nach der vorliegenden Hausmedikation, zusammengetragen.

**Tabelle 7: OPN-MWs mit SDs und MDs der nach Hausmedikation gruppierten Patientenkohorte**

	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	MD
Keine Medikation	5	712.34±239.19	766.36
Eine Medikation	33	689.86±280.00	645.90
ACE-Hemmer	12	623.88±296.70	577.36
ARB	16	759.32±297.54	776.93
MRA+ACE-Hemmer	5	625.95±125.27	593.24

## Ergebnisse

Die Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten wurden für die einzelnen Gruppen zum Vergleich in den *Tabellen 8, 9 und 10* eingefügt.

**Tabelle 8: Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten zwischen der Patientengruppe ohne aufgeführte Medikation und mit Medikation bzw. mit ACE-Hemmer, ARB oder ACE-Hemmer + MRA**

<b>Keine Medikation</b>	<b>Unterschied OPN MWs [ng/mL]</b>	<b>[95% KI]</b>	<b>p</b>
<i>Eine Medikation</i>	22.48	-245.92;290.87	0.866
<b>ACE-Hemmer</b>	88.46	-232.06;408.98	0.565
<b>ARB</b>	46.98	-259.97;353.93	0.752
<b>MRA+ACE-Hemmer</b>	86.39	-192.06;364.84	0.495

**Tabelle 9: Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten zwischen der Patientengruppe mit ACE-Hemmer und ARB bzw. ACE-Hemmer + MRA**

<b>ACE-Hemmer</b>	<b>Unterschied OPN MWs [ng/mL]</b>	<b>[95% KI]</b>	<b>p</b>
<b>ARB</b>	135.44	-97.84;368.71	0.243
<b>MRA+ACE-Hemmer</b>	2.07	-295.39;299.53	0.988

**Tabelle 10: Unterschied der OPN-MW mit 95% KI und p-Wert zwischen der Patientengruppe mit ARB und ACE-Hemmer + MRA**

<b>ARB</b>	<b>Unterschied OPN MWs [ng/mL]</b>	<b>[95% KI]</b>	<b>p-Wert 2-seitiger t-Test</b>
<b>MRA+ACE-Hemmer</b>	133.37	-156.75;423.49	0.348

Die n-Werte, OPN-MWs mit SDs und MDs sowie Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werte bzw. Rangsummen, Mann-Whitney-U sowie Z-Wert und asymptotische 2-seitige Signifikanz zwischen den nach anamnestischen und klinischen Parametern eingeteilten Gruppen der Patientenkohorte sind in *Tabelle 11* bzw. *Tabelle 12* zusammengefasst.

**Tabelle 11: n-Werte, OPN-MWs mit SDs und MDs, Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten der gruppierten Patientenkohorte**

	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	OPN-MD	Unterschied OPN-MW [ng/mL]	[95% KI]	p
<b>LV-Funktion eingeschränkt</b>	8	816.02 ± 218.17	894.28	156.06	-60.24;372.35	0.152
<b>LV-Funktion uneingeschränkt</b>	30	659.96 ± 278.72	616.95			
<b>NI</b>	7	846.29 ± 345.54	944.55	188.13	-37.20;413.47	0.099
<b>Keine NI</b>	31	658.16 ± 246.40	602.43			
<b>KHK</b>	19	682.31 ± 258.56	666.09	21.02	-160.36;202.41	0.815
<b>Keine KHK</b>	19	703.33 ± 291.77	645.90			
<b>ICD/SM</b>	10	639.79 ± 173.33	578.74	71.97	-89.61;233.55	0.369
<b>Kein ICD/SM</b>	28	711.76 ± 300.08	737.50			
<b>Myektomie/TASH</b>	6	552.25 ± 239.50	478.54	165.56	-81.09;412.21	0.182
<b>Keine Myektomie/TASH</b>	31	717.80 ± 277.52	713.35			
<b>VHF</b>	13	716.18 ± 214.29	666.09	35.51	-155.43;226.45	0.708
<b>Kein VHF</b>	25	680.67 ± 301.25	602.43			

## Ergebnisse

	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	OPN-MD	Unterschied OPN-MW [ng/mL]	[95% KI]	p
<b>LVOTO</b>	15	641.65 ± 245.98	578.19	41.30	-150.71;233.31	0.665
<b>Keine LVOTO</b>	23	682.95 ± 307.66	666.09			
<b>SAM-Phänomen</b>	15	643.69 ± 247.17	578.19	26.26	-178.81;231.34	0.796
<b>Kein SAM-Phänomen</b>	20	669.95 ± 325.95	656.00			

**Tabelle 12: OPN-MWs mit SDs und MDs, mittlere Ränge sowie Rangsummen, Mann-Whitney-Us, Z-Werte und Signifikanz der gruppierten Patientenkohorte**

	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	MD	Mittlerer Rang	Rangsumme	Mann-Whitney-U	Z-Wert	Signifikanz
<b>OSAS</b>	6	525.39 ± 32.76	577.36	12.00	72.00	51.00	-1.73	0.084
<b>Kein OSAS</b>	31	736.47 ± 277.07	766.36	20.35	631.00			
<b>SCD-Risikofaktor</b>	9	576.28 ± 301.72	412.530	14.56	131.00	86.00	-1.53	0.127
<b>Kein SCD-Risikofaktor</b>	29	728.99 ± 257.14	713.36	21.03	610.00			

Die OPN-MWs mit SDs und MDs, je nach Grad der Mitralklappeninsuffizienz [MKI] eingeteilt, sind in der *Tabelle 13* zusammengefasst.

**Tabelle 13: n-Werte, OPN-MWs mit SDs und MDs, eingeteilt nach Grad der MKI**

MKI	n	OPN-MW $\pm$ SD [ng/mL]	MD
0°	4	826.93 $\pm$ 298.27	784.09
1°	23	655.11 $\pm$ 291.40	602.43
2°	6	772.32 $\pm$ 243.36	716.23

Der *Tabelle 14* sind die Unterschiede der OPN-MWs zwischen der Gruppe MKI 0° und 1° bzw. 2° mit 95% KI und p-Wert bei 2-seitigem t-Test zu entnehmen. Hierzu analog sind die Daten in *Tabelle 15* für die Gruppe MKI 1° und 2° zusammengetragen.

**Tabelle 14: Unterschiede der OPN-MWs, 95% KIs, p-Werte zwischen den Gruppen MI 0° und 1° bzw. 2°**

MKI 0° vs.	Unterschied OPN MW [ng/mL]	[95% KI]	p
MKI 1°	171.82	-194.29;497.88	0.288
MKI 2°	54.61	-340.25;449.47	0.758

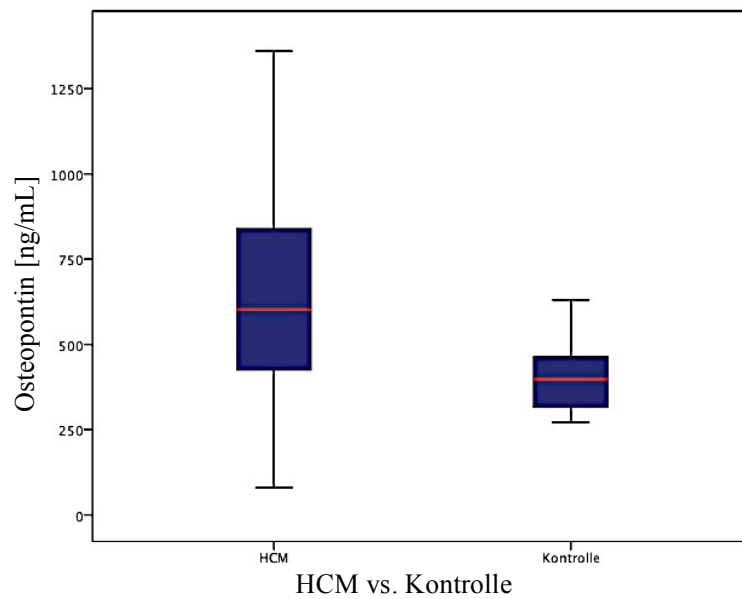
**Tabelle 15: Unterschiede der OPN-MWs, 95% KI, p-Wert zwischen der Gruppe MI 1° und 2°**

MKI 1° vs.	Unterschied OPN MW [ng/mL]	[95% KI]	p
MKI 2°	117.21	-149.08;383.51	0.374

### 3.4 Osteopontin

Der OPN-Mittelwert [OPN-MW] der Patientengruppe (n=41) lag bei 664.04 $\pm$ 284.74 ng/mL (MD=602.43). Die Kontrollgruppe (n=16) zeigte einen OPN-MW von 396.75 $\pm$ 96.77 ng/mL (MD=397.95). Patienten und Kontrollen wiesen einen signifikanten Unterschied der OPN-MWs von 267.29 ng/mL auf (2-seitiger t-Test, 95% KI [165.82;368.77], p<0.001).



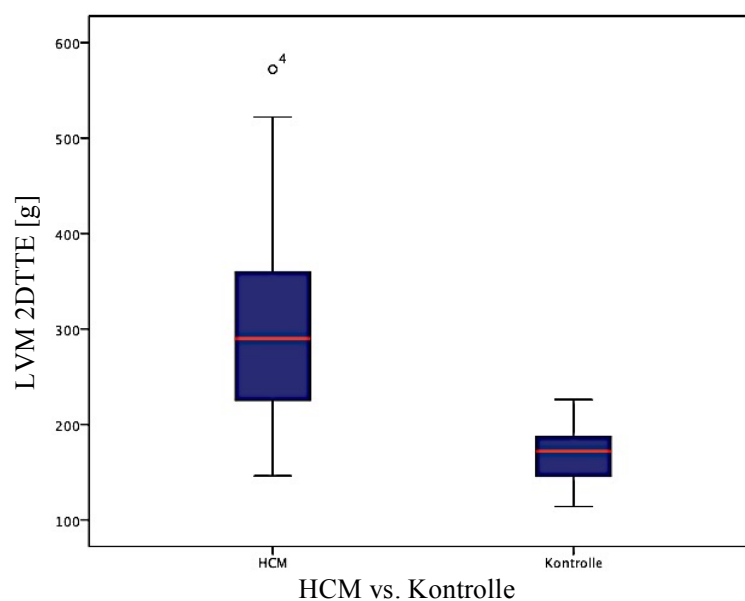


**Abbildung 4: Box-Whiskers-Plot der OPN-MWs Patientengruppe und Kontrollgruppe**

### 3.5 Zweidimensionale transthorakale Echokardiographie

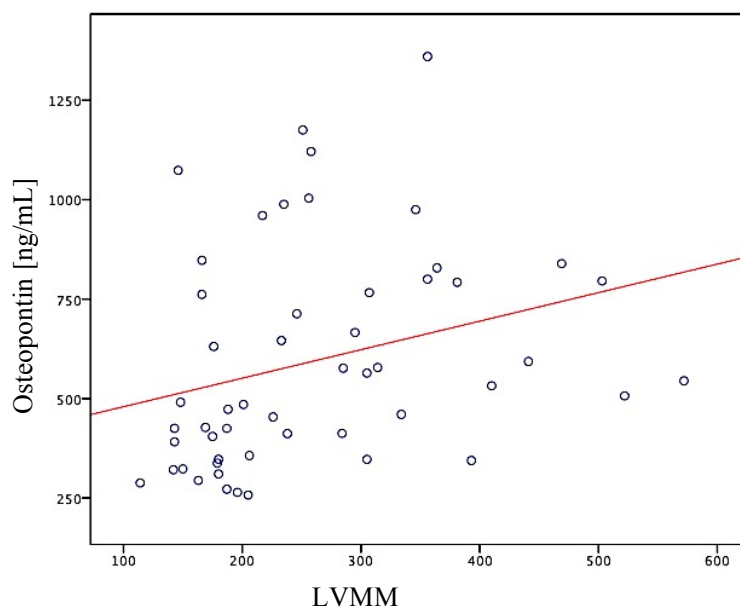
#### 3.5.1 Linksventrikuläre Muskelmasse bzw. Linksventrikulärer Muskelmasseindex

Die LVMM ergab einen MW von  $302.81 \pm 107.45$  g (MD=290.00) in der Patientengruppe (n=36) und von  $169.44 \pm 28.84$  g (MD=172.00) in der Kontrollgruppe (n=16). Es lag ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen von 133.36 g vor (2-seitiger t-Test, 95% KI [94.47;172.26],  $p < 0.001$ ).



**Abbildung 5: Box-Whiskers-Plot der LVMMs Patienten- und Kontrollgruppe**

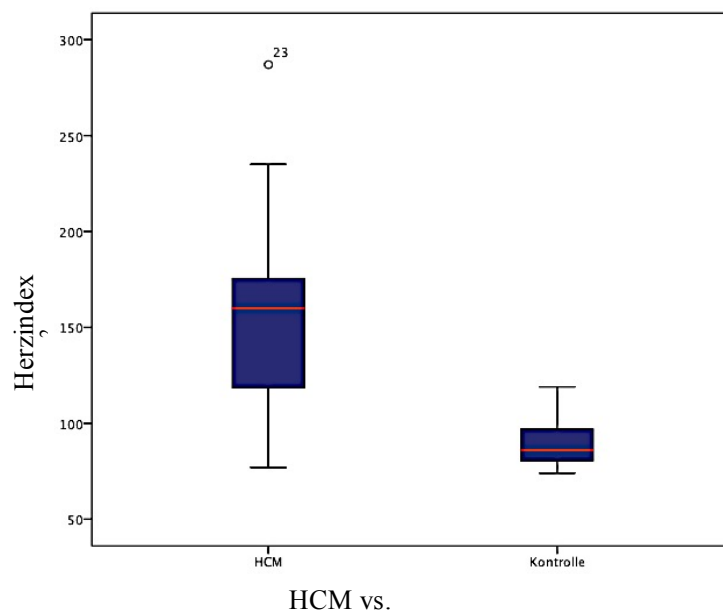
Eine signifikante Korrelation zwischen OPN und der LVMM zeigte sich weder in der Patientengruppe ( $n=36$ ,  $r=0.003$ ,  $p=0.98$ ) noch in der Kontrollgruppe ( $n=16$ ,  $r=0.28$ ,  $p=0.28$ ). Hingegen korrelierte OPN signifikant mit der LVMM, bezogen auf die Gesamtheit aller Individuen beider Gruppen ( $n=52$ ) (Spearman-Rho= $0.431$ ,  $p=0.001$ ).



**Abbildung 6: Regressionsgerade der Spearman Rho-Korrelation von OPN zu LVMM über Patienten- und Kontrollgruppe**

Der MW der LVMMi lag innerhalb der Patientengruppe ( $n=36$ ) bei  $152.31 \pm 42.93 \text{ g/m}^2$  (MD=160.00) und innerhalb der Kontrollgruppe ( $n=15$ ) bei  $90.47 \pm 12.22 \text{ g/m}^2$  (MD=86.00). Zwischen beiden Gruppen lag ein signifikanter Unterschied von  $61.84 \text{ g/m}^2$  vor (2-seitiger t-Test, 95% KI [46.10;77.58],  $p<0.001$ ).

## Ergebnisse



**Abbildung 7: Box-Whiskers-Plot der Herzindizes Patienten- und Kontrollgruppe**

Die OPN-MWs sowie SD und MD des nach Gruppen gegliederten LVMMi sind der *Tabelle 16* zu entnehmen. Die Unterschiede dieser MWs sowie p-Werte und 95% KIs der 2-seitigen t-Tests sind der *Tabelle 17*, *Tabelle 18* sowie *Tabelle 19* zu entnehmen.

**Tabelle 16: n-Werte, OPN-MWs mit SDs und OPN-MDs des gruppierten LVMMi der Patientenkohorte**

Gruppe	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	MD
0	3	774.15±67.92	761.65
1	5	596.81±356.87	424.99
2	4	790.11±398.40	819.03
3	23	687.08±262.02	645.90

**Tabelle 17: Unterschiede OPN-MWs, p-Werte und 95% KIs der 2-seitigen t-Tests zwischen Gruppe 0 und 1, sowie 0 und 2 bzw. 3**

Gruppe 0	Unterschied OPN MW [ng/mL]	[95% KI]	p
Gruppe 1	177.35	-260.80;615.49	0.355
Gruppe 2	15.95	-604.92;636.83	0.942
Gruppe 3	87.08	-231.72;405.88	0.587

**Tabelle 18: Unterschiede OPN-MWs, p-Werte und 95% KIs der 2-seitigen t-Testes zwischen Gruppe 1 und 2 bzw. 3**

Gruppe 1	Unterschied OPN MW [ng/mL]	[95% KI]	p
Gruppe 2	177.35	-260.80;615.49	0.355
Gruppe 3	15.95	-604.92;636.83	0.942

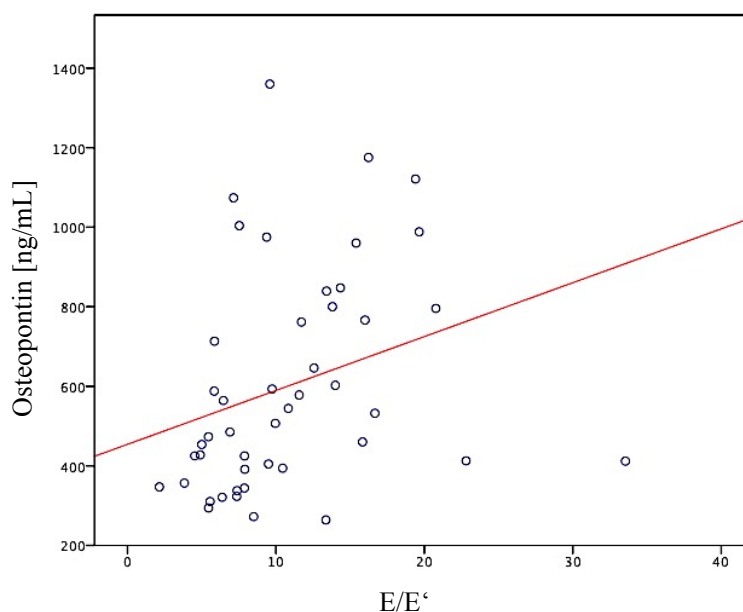
**Tabelle 19: Unterschied OPN-MW, p-Wert und 95% KI des 2-seitigen t-Testes zwischen Gruppe 2 und 3**

Gruppe 2	Unterschied OPN MW [ng/mL]	[95% KI]	p
Gruppe 3	177.35	-260.80;615.49	0.355

### 3.5.2 Diastolische Funktion

Der MW des E zu E'-Verhältnisses  $[E/E']$  lag in der Patientengruppe (n=33) bei  $12.70 \pm 6.08$  (MD=11.71) und in der Kontrollgruppe (n=13) bei  $6.25 \pm 1.68$  (MD=5.56). Osteopontin zeigte keine signifikante Korrelation zu E/E' in der Patientengruppe (Spearman-Rho=0.167, p=0.354). Auch in der Kontrollgruppe korrelierte OPN nicht signifikant mit E/E' (r=-0.196, p=0.521). Über beide Gruppen (n=46, E/E'-MW= $10.88 \pm 5.97$ , MD=9.54) korrelierte OPN signifikant mit dem Verhältnis E/E' (Spearman-Rho=0.433, p=0.003).

## Ergebnisse



**Abbildung 8: Regressionsgerade der Spearman Rho-Korrelation von OPN zu E/E' über die gesamte Studienkohorte**

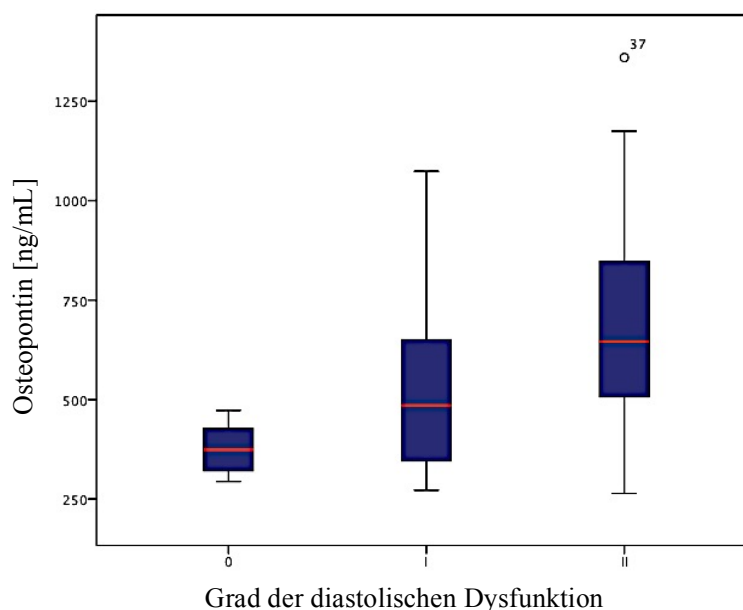
Die n-Werte, OPN-MW mit SD und MD der Patienten- und Kontrollgruppe, nach Grad der HFpEF gruppiert, sind der *Tabelle 20* zu entnehmen.

**Tabelle 20: OPN-MWs und SDs, MDs, n-Werte der nach Grad der HFpEF gruppierten Kohorte**

Grad HFpEF	n	OPN-MW±SD [ng/mL]	MD
<b>0 (normal)</b>	10	377.64±64.91	373.99
<b>1</b>	11	559.51±270.78	485.12
<b>2</b>	25	709.64±277.89	645.90
<b>3</b>	0	-	-

Zwischen Gruppe 0 und Gruppe I zeigte sich im Vergleich der OPN-MWs ein signifikanter Unterschied von 181.87 ng/mL (2-seitiger t-Test, 95% KI [-2.91;366.65],  $p=0.053$ ). Zwischen der Gruppe I und Gruppe II lag ein nicht signifikanter Unterschied von 150.13 ng/mL vor (2-seitiger t-Test, 95% KI [-52.67;352.94],  $p=0.142$ ). Es lag ein signifikanter Unterschied von 332.00 ng/mL zwischen der Gruppe im Stadium 0 und der Gruppe im

Stadium II vor (2-seitiger t-Test, 95% KI [210.92;453.08],  $p < 0.001$ ). In das Stadium III fielen  $n=0$  Patienten.

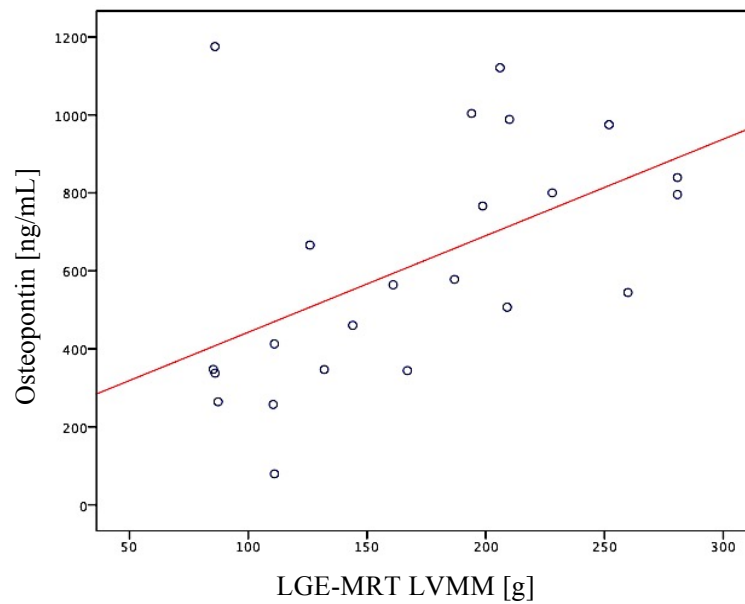


**Abbildung 9: Box-Whiskers-Plot Grad diastolische Dysfunktion Patienten- und Kontrollgruppe**

Innerhalb der HCM-Patientengruppe ( $n=33$ ) allein betrachtet zeigte sich ein nicht-signifikanter Unterschied der OPN-MW von 122.66 ng/mL zwischen der Gruppe im HFpEF-Stadium I ( $n=9$ , OPN-MW=599.69 $\pm$ 280.76, MD=564.24) und der Gruppe im HFpEF-Stadium II ( $n=24$ , OPN-MW=722.35 $\pm$ 276.34, MD=703.78), (2-seitiger t-Test, 95% KI [-98.55;343.87],  $p=0.267$ ).

### **3.6 Korrelation der linksventrikulären Muskelmasse sowie quantifiziertem *Late Gadolinium Enhancement* aus der Magnetresonanztomographie**

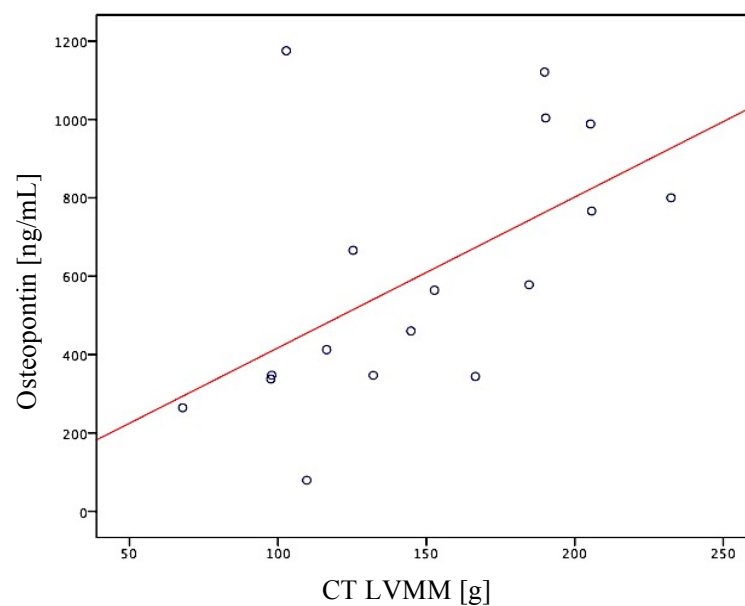
Die bei HCM-Patienten in der MRT ermittelte LVMM ( $n=23$ ) ergab einen MW von 170.12 $\pm$ 64.50 g (MD=167.00). Osteopontin zeigte hier eine signifikante Korrelation zur LVMM ( $r=0.523$ ,  $p=0.001$ ). Die in der LGE-MRT bestimmte Fibrosemasse der Patientengruppe ( $n=21$ ) ergab einen MW von 5.66 $\pm$ 10.18 g (MD=2.35). Osteopontin korrelierte in diesem kleinen Kollektiv nicht-signifikant mit der hier bestimmten Fibrosemasse (Spearman-Rho=0.216,  $p=0.346$ ).



**Abbildung 10: Regressionsgerade der Pearson-Korrelation von OPN zu MRT-basierter LVMM**

### 3.7 Korrelation der linksventrikulären Muskelmasse sowie quantifiziertem *Late Enhancement* aus der Mehrschicht Computertomographie

Die in der LeMSCT gemessene LVMM (n=17) zeigte einen MW von  $148.34 \pm 47.25$  g (MD=144.80). OPN korrelierte hier signifikant mit der LVMM ( $r=0.559$ ,  $p=0.020$ ). Es ergab sich ein Mittelwert von  $5.41 \pm 8.93$  g (MD=2.09) für die hier ermittelte Fibrosemasse (n=21). Hier zeigte OPN keine signifikante Korrelation zur gemessenen Fibrosemasse (Spearman-Rho=0.164,  $p=0.477$ ).



**Abbildung 11: Regressionsgerade der Pearson-Korrelation von OPN zu CT-basierter LVMM**

## 4 Diskussion

Im Rahmen unserer Pilotstudie wurde erstmals die Rolle des Glykoproteins OPN als Diagnostikum in der Evaluation der HCM untersucht. Es wurde gezeigt, dass im Plasma bestimmtes OPN bei Patienten mit primärer HCM im Vergleich zu einer gesunden Kontrollkohorte signifikant erhöht vorliegt. Zudem zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang der Höhe des Markers mit der sowohl in LGE-MRT als auch in LeMSCT gemessenen LVMM. Ein statistischer Zusammenhang zwischen OPN-Plasmaspiegel und kardialer Hypertrophie konnte somit erstmals für die HCM aufgezeigt werden. Osteopontin korrelierte innerhalb des gesamten Studienkollektivs positiv mit der echokardiographisch mittels E/E' bestimmten diastolischen Funktion sowie den Stadien der HFpEF. Durch Erweiterung der Kohorte um die Kontrollgruppe zeigte sich ebenfalls ein statistisch-signifikanter Zusammenhang zur echokardiographisch bestimmten LVMM. Die diagnostische und prognostische Wertigkeit OPNs für myokardiale Erkrankungen konnte bereits in vorausgegangenen Studien dargelegt werden. In dieser Feststellung liegt die Bedeutung des vorliegenden Projektes mit seiner geringen Fallzahl und einhergehend eingeschränkten statistischen Aussagekraft.

### 4.1 Ergebnisse der transthorakalen Echokardiographie

#### 4.1.1 Linksventrikuläre Muskelmasse, linksventrikulärer Muskelmasseindex

Die LVMM korreliert mit der Prognose kardialer Erkrankungen, welche mit einer Hypertrophie einhergehen. Die linksventrikuläre Muskelmasse gilt bei chronischen Herzerkrankungen als unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse<sup>118</sup>. Auch für OPN konnte diese prognostische Wertigkeit gezeigt werden<sup>104</sup>. Ein Zusammenhang zwischen OPN-Erhöhung und myokardialer Hypertrophie konnte ebenfalls bereits nachgewiesen werden<sup>91</sup>. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich auch im Rahmen dieser Studie ein Zusammenhang von OPN zu der berechneten LVMM bzw. zu dem LVMMi zeigen würde.

Die berechnete LVMM zeigte für die Patientengruppe separat betrachtet keine Korrelation zu den gemessenen OPN-Werten. Unter statistischer Mitberücksichtigung der Kontrollgruppe, deren LVMM-Mittelwerte einen signifikanten Unterschied aufzeigten ( $p < 0.001$ ), ließ sich ein



## Diskussion

wider Erwarten nur schwacher statistischer Zusammenhang von OPN zur LVMM beobachten (Spearman-Rho=0.431,  $r=0.001$ ). Auch eine Gruppierung der Patientengruppe nach LVMMi zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede der OPN-MWs zwischen den einzelnen Gruppen.

Dass dieser Zusammenhang innerhalb der separat betrachteten Patientengruppe nicht beobachtet werden konnte, ist möglicherweise der Größe der Stichprobe geschuldet. Ein Hinweis darauf ist, dass sich unter Mitberücksichtigung der Kontrollgruppe eine signifikante, positive Korrelation zur Höhe der bestimmten OPN-Werte zeigen ließ. Für die aus LGE-MRT und LeMDCT gemessenen LVMM war dieser Zusammenhang bereits bei einer kleineren Stichprobe ( $n=23$  bzw.  $n=17$ ) nachweisbar. Die berechnete LVMM aus den Daten der 2D-TTE korrelierten signifikant mit der in MRT bzw. aus LeMDCT bestimmten LVMM.

Aus mehreren Studien ist bekannt, dass die Berechnung der LVMM mit der zuvor genannten Formel (siehe 2.2.2) die Masse des LV im Vergleich zu der in MRT bestimmten LVMM überschätzt<sup>119,120</sup>. Vor allem Hypertrophien im oberen Bereich des IVS führen in der 2D-TTE zu einer zu hoch berechneten LVMM<sup>108,109</sup>.

Auch der Einfluss einer Untersucherabhängigkeit (Interobservervariabilität), insbesondere für die Bestimmung der linksventrikulären Hinterwand und IVS<sup>121</sup>, sowie eine Intertestvariabilität der echokardiographisch bestimmten Parameter, welche für die Berechnung der LVMM herangezogen werden, ist beschrieben<sup>122</sup>.

Die zur Berechnung der LVMM genutzte Formel basiert auf der Annahme, dass der LV die Geometrie eines Rotationsellipsoids mit einem 2:1 Verhältnis der langen zur kurzen Achse aufweist<sup>109,118</sup>. Diese Voraussetzung bedingt, dass die in der 2D-TTE durch den linearen (eindimensionalen) M-Mode bestimmten Parameter in die dritte Potenz gehoben werden. Geringe Abweichungen in der Bestimmung einzelner Parameter wirken sich stark auf das Ergebnis aus. Dieser Umstand stellt die größte Einschränkung bei der Berechnung der linksventrikulären Masse dar und resultiert in einer Ungenauigkeit und somit in einer eingeschränkten Reproduzierbarkeit dieser<sup>119,123,124</sup>.

Diese geometrische Bedingung setzt voraus, dass eine mögliche Hypertrophie symmetrisch verteilt ist. Ein asymmetrisches Verteilungsmuster der Hypertrophie, wie sie bei der HCM häufig beobachtet wird, führt zu einer Ungenauigkeit in der Berechnung der LVMM<sup>108,109</sup>. Auch ein Einfluss des Füllungszustandes auf die Bestimmung der LVMM ist beschrieben worden. Der zur Berechnung bestimmte linksventrikuläre diastolische Diameter zeigt einen

linearen Zusammenhang zur kardialen Vorlast, welche sich durch Volumendepletion signifikant verringern kann<sup>125</sup>.

Sowohl die allgemeinen Schallbedingungen als auch die Richtungslage der Schallachse stellen bei der Differenzierung von Blut und Endo- bzw. Epikard weitere Herausforderungen, dar<sup>49,109,118</sup>.

#### 4.1.2 Diastolische Herzinsuffizienz des linken Ventrikels

Eine diastolische Herzinsuffizienz ist bei HCM sehr verbreitet<sup>126-128</sup>. Teilweise tritt diese bereits vor Manifestierung und unabhängig vom Ausmaß einer myokardialen Hypertrophie in Erscheinung<sup>129</sup>. Bei nahezu einem Drittel aller HCM Patienten ist diese symptomatisch<sup>107</sup>, während sie bei fast jedem HCM-Patienten apparativ nachweisbar ist<sup>127</sup>. Sie ist das Resultat aus einer Summe an komplexen, teilweise zusammenhängenden, pathologischen Veränderungen, welche die Funktion des Myokards synergistisch beeinträchtigen<sup>128</sup>. Eine verlängerte Relaxationsphase sowie Abnahme des ventrikulären Unterdrucks in der frühdiastolischen Phase des linksventrikulären Myokards<sup>128</sup> sind wahrscheinliche Folgen molekularer Veränderungen des intrazellulären Calcium- und Energiehaushaltes<sup>130</sup>. Darüber hinaus spielen relevante mikroskopische Pathologien, wie v.a. Veränderungen in der Menge und Zusammensetzung der EZM eine Rolle<sup>131</sup>. Mehrere Studien belegten, dass einer IF eine bedeutende Funktion in der Pathogenese der HFpEF zukommt<sup>132,133</sup>. Aufgrund der besagten Schlüsselfunktion von OPN in der Entstehung der IF wurde innerhalb dieser Studie erstmalig auch für die HCM ein möglicher Zusammenhang von OPN mit HFpEF geprüft. Wie für die pathophysiologisch ähnlich strukturierte DCM bereits gezeigt werden konnte, geht eine Erhöhung von OPN mit einer stärker ausgeprägten klinischen Beeinträchtigung sowie mit einer Verschlechterung der Prognose einher<sup>104</sup>. Das Ausmaß der HFpEF ist, analog einer Reihe anderer chronischer Herzkrankheiten<sup>74,134,135</sup>, bei der HCM prognosebestimmend<sup>126,127</sup>.

Es wurde ein statistischer Zusammenhang zwischen der Höhe von OPN-Plasmaspiegeln und dem Verhältnis  $E/E'$  geprüft. Bei Zusammenlegung von Kontroll- und Patientengruppe ließ sich eine moderate, signifikante Korrelation von OPN zu  $E/E'$  beobachten. Es konnte jedoch innerhalb der getrennt betrachteten Gruppen keine signifikante Korrelation von OPN zu  $E/E'$  gefunden werden. Zu dieser Beobachtung konkordant war der Vergleich der mittleren OPN-Werte zwischen den nach Nishimura und Tajik<sup>107</sup> gebildeten Gruppen der HFpEF. Hier konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte zwischen den Gruppen 0 und 1

## Diskussion

bzw. 2, jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2 beobachtet werden. Gruppe 0 umfasste ausschließlich gesunde Kontrollprobanden. In Gruppe 1 und 2, mit Ausnahme zweier Kontrollprobanden im Stadium 1, befanden sich nur HCM-Patienten. Innerhalb des Patientenkollektives zeichnete sich, wenn auch statistisch nicht signifikant, analog des Schweregrades eine Tendenz zu höheren OPN-Werten von 122.66 ng/mL (20.45%) ab.

Der erwartete Zusammenhang zwischen einer diastolischen Dysfunktion und erhöhten OPN-Werten konnte im Rahmen dieser Arbeit nur bedingt aufgezeigt werden. Es ist anzumerken, dass das Verhältnis  $E/E'$  in der Evaluation der HCM eine eingeschränkte Aussagekraft zeigt. Vergleichende, invasive Messungen des linksatrialen Druckes bei HCM-Patienten zeigten in der Studie von Geske *et al.* eine statistisch zwar signifikante, jedoch insgesamt mäßige Korrelation zu  $E/E'$ <sup>128</sup>. Dazu im Einklang stehen die Beobachtungen von Rakowski und Carasso. Sie beschreiben den Zusammenhang zwischen erhöhten  $E/E'$ -Werten und klinischem Beschwerdebild, Ausmaß der Hypertrophie, Größe des linken Vorhofs sowie kardiovaskulären Endpunkten (Tod, Herzstillstand, VT). Gleichzeitig betonen die Autoren, dass  $E/E'$  als Einzelparameter zwar zur Befundung der HFpEF bei HCM beiträgt, das wahre Ausmaß jedoch nicht valide widerspiegeln kann<sup>127</sup>. Hiermit unterstreicht die Arbeitsgruppe, dass angesichts der komplexen Ätiologie der HFpEF prinzipiell eine multiparametrische Diagnostik anzustreben ist.

Die Einteilung nach Nishimura und Tajik umfasst neben Gewebe- und Pulswellenindices zudem Werte aus dem Farb-Doppler-M-Mode<sup>107</sup>. Auch die in diesem Projekt festgestellte Tendenz zu höheren OPN-Werten bei Patienten mit HFpEF im Stadium 2 unterstützt ein multiparametrisches Vorgehen im Sinne einer exakteren Quantifizierung.

### 4.1.3 Systolische Herzinsuffizienz des linken Ventrikels

Die intramyokardiale Fibrose wird heute als das morphologische Hauptsupstrat der HFrEF verstanden. Ihr liegt über eine Abnahme der linksventrikulären Dehnbarkeit im Sinne der HFpEF hinaus ein zunehmender Verlust kontraktile Elemente des Myokards zugrunde<sup>48,136</sup>. Zudem verdichten sich Hinweise darauf, dass eine Hypertrophie der Myozyten maßgeblich an der Entstehung einer HFrEF mitwirkt<sup>137,138</sup>.

Als Folge dessen wären bei HCM-Patienten mit HFrEF erhöhte OPN-Werte plausibel. Dies ließ sich im Rahmen unserer Versuchsreihen allerdings nur bedingt aufzeigen. Innerhalb der

Patientengruppe mit HFrEF zeigten sich 23.65% höhere OPN-Werte als in der Patientengruppe mit erhaltener systolischer Funktion. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Anzumerken ist, dass bei Patienten mit linksventrikulärer Hypertrophie [LVH] die Bestimmung der EF eine eingeschränkte Aussagekraft besitzt. Dies liegt darin begründet, dass die EF einen linearen Zusammenhang zur enddiastolischen Wandstärke zeigt. Die Ejektionsfraktion ist bei Patienten mit LVH real als niedriger einzuschätzen. Die Gruppe um Maciver schlägt zur Berechnung einen Korrekturfaktor vor, welcher je nach Ausmaß der LVH gebildet wird<sup>139</sup>. Analog zur Quantifizierung einer HFpEF ist für die Bestimmung der HFrEF bei HCM ebenfalls ein multiparametrisches Vorgehen angezeigt.

Synergistisch wirken die morphologischen Charakteristika Hypertrophie, interstitielle Fibrose sowie die pathognomonische Histopathologie einer fokal auftretenden Fehlanordnung der Myofibrillen (*myocardial dysarray*)<sup>17</sup> beeinträchtigend auf die Kontraktilität des Myokards. Dieses wurde durch Urbano-Moral *et al.* auch bei HCM-Patienten mit erhaltener EF mittels 3D-TTE-basiertem *speckle-tracking* nachgewiesen<sup>140,141</sup>. Sie zeigten damit, dass auch bei erhaltener EF eine Störung der globalen LV-Funktion vorliegt<sup>142</sup>. Vor diesem Hintergrund ist zu erwarten, dass künftig Daten aus 3D-TTE-Studien einen stärkeren Zusammenhang mit OPN bei HCM Patienten aufweisen.

Gemessen an der Größe der Studienkohorte erscheinen jene Probanden mit HFrEF, im Vergleich zu der beschriebenen Prävalenz von 5-10%, überrepräsentiert. Dies ist am ehesten Folge einer Präselektion, wie sie an einem tertiären Zuweisungszentrum zu erwarten ist.

#### **4.1.4 Linksventrikuläre Ausflusstraktobstruktion, *Systolic Anterior Motion*-Phänomen der Mitralklappe, Mitralklappeninsuffizienz**

Wie in der Einleitung angeführt, besteht ein kausaler Zusammenhang zwischen einer LVOTO, SAM-Phänomen der MK, MKI und myokardialer Hypertrophie bzw. konsekutiver IF. Es konnte jedoch für keine dieser echokardiographisch bestimmten Pathologien ein statistischer Zusammenhang zu erhöhten OPN-Werten bzw. eine entsprechende Tendenz beobachtet werden. Diese Beobachtungen widersprechen der Hypothese, dass sich Hypertrophie sowie teilweise IF als Ursache und Folge von Veränderungen des LVOTO in den gemessenen OPN-Werten widerspiegeln lassen. Eine Erklärung bietet die Überlegung, dass das Ausmaß an Hypertrophie für eine Erhöhung des Strömungswiderstandes zwar ausreicht,

sich die Gesamtmasse hierdurch jedoch nicht relevant erhöht. Entscheidend hinzu kommt, dass ein SAM-Phänomen der MK auch ohne Hypertrophie vorliegen kann und so auch als eine Ursache der LVOTO wirken kann<sup>143,144</sup>. Der Gradient der LVOTO gilt als dynamisch, er unterliegt sowohl der Kontraktilität des Ventrikels als auch dem Füllstatus der Gefäße. Zudem spielt der allgemeine Belastungszustand des Patienten und ein Zeitabstand zur Nahrungsaufnahme eine Rolle in der Variabilität des Gradienten<sup>145</sup>. Als prognostisch relevant bzw. als unabhängiger Risikofaktor gilt es, einen Zusammenhang von OPN zu Anomalien in der LVOTO im Rahmen umfassender, prospektiver Studien weiter zu prüfen.

### 4.2 Linksventrikuläre Muskelmasse und Fibrosedetektion in LGE-MRT bzw. LeMSCT

Bei HCM-Patienten konnte erstmalig in dieser Studie ein statistischer Zusammenhang zwischen der via dreidimensionaler Schnittbildgebung bestimmten LVMM und der Höhe der plasmatischen OPN-Werte aufgezeigt werden. Dies ist vereinbar mit Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Olivotto *et al.*, die die LVMM als prognostisch relevanten Risikofaktor bei HCM identifizierten. Im Umkehrschluss hierzu gilt, dass HCM-Patienten mit normaler LVMM die beste Prognose bezüglich des Krankheitsverlaufes aufweisen<sup>58</sup>. Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Korrelation suggeriert OPN als möglicherweise relevant für ein künftiges Konzept der HCM-Risikostratifizierung.

Als Vertreter der dreidimensionalen Schnittbildgebung gewährleistet die LGE-MRT im Vergleich zur 2D-TTE eine exaktere Bestimmung der Myokardhypertrophie im Sinne der LVMM<sup>55,118</sup>. Zudem bietet die LGE-MRT eine geringere *Interstudy*-Variabilität bzw. eine signifikant höhere Reproduzierbarkeit bei der LVMM-Bestimmung<sup>146</sup>. Wie initial aufgeführt, eignet sich auch die LeMSCT als valide Untersuchungsmethode in der Evaluation der HCM. Diese Studien belegen, dass sich die Hypertrophie in MRT bzw. MSCT, im Vergleich zur Messung in der TTE, exakter quantifizieren lässt. Ließe sich die LVMM auch in der TTE ähnlich genau bestimmen, wären auch hier stärkere Korrelationen der Masse zu OPN zu erwarten.

Unsere Hypothese, dass OPN eine positive Korrelation zur Menge an Fibrose-repräsentierendem LGE bzw. Le zeigt, konnte nicht durch unsere Beobachtungen gestützt werden. Es sind verschiedene Einflüsse auf dieses Ergebnis zu berücksichtigen. Die Größe der Pilotkohorte, die eine LGE-MRT bzw. LeMSCT des Herzens erhielten, war mit n=23 bzw. n=17 begrenzt. Es zeigten sich jedoch auch bei individuell betrachteten Patienten mit

hoher Masse an Fibrose-repräsentierendem LGE bzw. Le vergleichsweise geringe Konzentrationen an OPN. Wie bereits aufgeführt, zeigt die genutzte manuelle Methode zur Quantifizierung des LGE bzw. Le Einschränkungen in der Reproduzierbarkeit. Generell sowie im Speziellen für die HCM ist für alle Methoden der LGE-Quantifizierung die Reproduzierbarkeit deutlich eingeschränkt<sup>113,147</sup>. Auch wird das wahre Ausmaß der IF in der LGE-MRT nur unzureichend erfasst. Ein Grund hierfür ist, dass mit der LGE-MRT nur makroskopisch sichtbare Fibrose repräsentiert werden kann<sup>148</sup>. Erhöhungen des Kollagenumsatzes auf mikroskopischer Ebene bleiben mit dieser Methode unentdeckt. Die zu der Zeit der Datenerhebung unseres Projektes konventionell durchgeführte LGE-MRT erfasste nur fokal, jedoch nicht die diffus verteilte Fibrose<sup>31,149,150</sup>. In Zukunft könnten neue Untersuchungsmethoden, wie das MRT-basierte *T1-mapping*<sup>149</sup> oder die von Flett *et al.* beschriebene Methode des Equilibrium-Kontrast-MRT<sup>150</sup>, präzisere Ergebnisse liefern. Deren Zusammenhang mit plasmatisch gemessenen OPN-Spiegeln wäre aus unserer Sicht erneut zu prüfen.

Ebenfalls muss berücksichtigt werden, dass die derzeitige Studienlage bezüglich plasmatisch bestimmbarer Kollagensynthesemarker bei HCM kontrovers diskutiert wird. Ho *et al.* konnten in ihrer Studie einen signifikanten Unterschied der peripheren Plasmakonzentrationen von PICP zwischen HCM-Patienten, sowohl mit manifester Hypertrophie als auch ohne, und gesunden Kontrollen darstellen. Jedoch fand sich kein statistischer Zusammenhang zwischen dem Auftreten von LGE und der Höhe der hier bestimmten Marker der Fibrose bzw. des Kollagenumsatzes (PICP, CICP, MMP-1, TIMP)<sup>31</sup>. Tülüce *et al.* zeigten für einen weiteren generellen Fibrosemarker (Galectin-3), dass bei HCM-Patienten signifikant höhere periphere Plasmakonzentrationen vorliegen. Die Höhe des Markers korrelierte in ihrer Studie positiv mit der in der 2D-TTE bestimmten LVMM<sup>151</sup>. Im Gegensatz hierzu fanden Ellims *et al.* weder einen signifikanten Unterschied der gemessenen Konzentration von Propeptiden der Prokollagene zwischen HCM-Patienten und Kontrollen, noch konnten sie eine Korrelation dieser Marker zur LGE-MRT nachweisen. Auch konnte in dieser Studie kein Beweis für eine kardiale Herkunft der messbaren Marker, im Sinne eines erhöhten transkardialen Gradienten, aufgezeigt werden<sup>77</sup>. Eine mögliche Erklärung hierfür war, dass der Anteil von IF an der Gesamtheit des Kollagenumsatzes eines Körpers vergleichsweise gering ausfällt und dieser somit keinen signifikanten Einfluss auf peripher gemessene Marker zeigen kann.

## Diskussion

Die Schlüsselfunktion von OPN in der Entstehung interstitieller Fibrose sowie in der Apoptose myokardialer Zellen und der konsekutiven Ersatzfibrose ist eingangs erläutert worden.

Möglicherweise gibt diese Arbeit erste Hinweise darauf, dass die in der Bildgebung bestimmte Fibrose als abgeschlossener Prozess zu deuten ist. Osteopontin hingegen ist ein Mediator des aktiven Prozesses der Entstehung von Fibrose. Wir haben nur eine einzelne Messung der OPN-Werte durchgeführt. Somit lässt sich nicht ausschließen, dass konsekutive Messungen von OPN einen Zusammenhang zu einer Änderung der Menge an LGE bzw. Le gezeigt hätten.

Auch ein Einfluss von körperlicher Anstrengung auf den Kollagenumsatz ist beschrieben<sup>77</sup>. Da es sich bei der Studienkohorte um hospitalisierte Patienten handelte, ist dieser in unserer Arbeit zu vernachlässigen.

### **4.3 Myektomie bzw. Transkoronare Ablation der Septumhypertrophie**

Patienten, die sich einer Myektomie oder TASH unterzogen hatten, wiesen im Vergleich zu unbehandelten Patienten keinen signifikanten Unterschied der mittleren OPN-Werte auf. Auch zeigte die Gruppe der Behandelten keine Tendenz zu höheren OPN-Werten. Die chirurgische Abtragung des Myokards sowie vor allem die interventionelle TASH ziehen eine IF nach sich. Eine operative Abtragung der Hypertrophie reduziert diese zwar, jedoch entsteht im Rahmen der Ausheilung eine IF aufgrund des Gewebedefektes. Erwartet wurde, dass sich in der Gruppe der behandelten Patienten höhere OPN-Spiegel finden ließen. Auch für diese Beobachtung gilt, dass die kardiale Fibrosemasse im Vergleich zum gesamten körperlichen Umsatz gering ausfällt. Linksventrikulärer, intrakavitärer Druck sowie mechanischer Stress aufgrund von intrakavitären Scherkräften werden durch eine LVOTO verstärkt und führen zu myokardialer Hypertrophie oder aggravierern diese. Daher kann argumentiert werden, dass durch die Reduktion des Gradienten die OPN-Produktion konsekutiv geringer ausfällt. Die im Rahmen dieser Studie gemachten Beobachtungen sind auch aufgrund der geringen Stichprobengröße an behandelten Patienten inkonklusiv. Interessante Daten könnten hier prospektive Multicenter-Studien liefern, die mittels konsekutiver Messungen vor und nach Myektomie bzw. TASH eine Änderung der OPN-Werte aufzeigen müssten.

#### 4.4 Antiproliferative medikamentöse Therapiestrategien

In der Entstehung von IF wird dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System [RAAS] eine entscheidende Funktion zuteil. Angiotensin-II induziert bei Patienten mit Herzinsuffizienz massiv die OPN-Expression in Kardiomyozyten und Myofibroblasten. Es wirkt als Hauptmediator eines profibrotischen Umbaus des Myokards<sup>89,91,101</sup>. Eine Studie an OPN-Knockout-Mäusen zeigte, dass in Abwesenheit von OPN die Angiotensin-II-vermittelte IF ausfällt<sup>97</sup>. Ebenso wurde belegt, dass eine Therapie mit dem Angiotensin-Rezeptor-1-Antagonisten [ARB] Losartan, über eine Hemmung der TGF- $\beta$ -Expression, die Entstehung der IF signifikant mindert<sup>152</sup>. Antiproliferative Therapieregimente mit Antagonisten des RAAS haben auch in der Prävention und Behandlung der myokardialen Hypertrophie eine wichtige Rolle eingenommen<sup>153,154</sup>.

Ein signifikanter Unterschied der OPN-Mittelwerte zwischen den HCM-Patienten, welche ein antiproliferativ-wirkendes Medikament (ARB, Ang-II-, ACE-, bzw. Mineralocorticoid-Rezeptor-Antagonisten [MRA]) erhielten und der Gruppe ohne einer solchen Therapie wurde im Rahmen dieser Studie nicht beobachtet.

Eine konsekutive Bestimmung von OPN vor dem Beginn einer Therapie und in deren Verlauf könnte eine Änderung von OPN aufzeigen. Die Daten für diese Studie wurden retrospektiv erhoben, daher bot sich die Möglichkeit der mehrfachen Bestimmung von OPN nicht an. Ein weiterer Aspekt ist, dass die Arbeitsgruppe um Lechin *et al.* Variationen des Angiotensin-Converting-Enzyme-Gens bei der HCM beschrieben hat. Diese zeigten einen Zusammenhang zum Ausmaß der myokardialen Hypertrophie<sup>155</sup>. Ein prinzipiell möglicher Einfluss dieser Mutationen auf das Ansprechen des ACE auf die beschriebenen Medikamente ist zum Zeitpunkt dieser Arbeit noch nicht untersucht worden.

#### 4.5 Vorhofflimmern

Die Annahme, dass sich ein Zusammenhang der OPN-Werte mit dem Auftreten von VHF darstellen ließe, konnte mit dieser Versuchsreihe und seiner geringen Fallzahl nicht bestätigt werden. Patienten mit VHF zeigten weder signifikant höhere OPN-Spiegel auf, noch korrelierten diese signifikant mit der Menge an Fibrose-repräsentierendem LGE in der MRT bzw. Le in der MSCT.



Ein LGE zeigt sich bei etwa der Hälfte aller Patienten<sup>59,62</sup>, die Prävalenz von VHF liegt bei etwa 22%<sup>53</sup>. Patienten mit einem Endstadium der HCM zeigen zu über 90% ein LGE<sup>53</sup>, ein VHF betrifft etwa die Hälfte dieser Patientengruppe. Nach heutiger Kenntnis liegt dieser Zusammenhang darin begründet, dass IF zu einer diastolischen Funktionsstörung führt, welche wiederum eine Belastung des linken Atriums nach sich zieht. Eine Dilatation des linken Atriums ist der stärkste unabhängige Prädiktor für VHF<sup>65</sup>. Die linksventrikuläre Fibrosierung ist somit generell ein Marker des Schweregrades der HCM und weniger ein spezifischer auslösender Mechanismus für VHF<sup>53</sup>. Dennoch könnten konsekutive OPN-Bestimmungen eine Änderung im Umsatz der EZM frühzeitig erkennen. Diesen Zusammenhang gilt es in größeren Multicenterstudien zu prüfen. Auch hier sei die eingeschränkte diagnostische Genauigkeit der LGE-MRT erwähnt, der falsch positive bzw. falsch negative Befunde zugrunde liegen.

### 4.6 Stadien der Dyspnoe gemäß NYHA-Klassifikation

Wie Rosenberg *et al.* für die dilatative und Ischämie-bedingte Kardiomyopathie belegten<sup>104</sup>, weisen diese Patienten im Stadium NYHA I und II signifikant geringere periphere OPN-Plasmaspiegel auf als im Stadium NYHA III und IV. Ebenfalls fanden Suezawa *et al.* eine signifikante, inverse Korrelation der LV-Funktion mit OPN-Plasmaspiegeln bei Patienten, die nach akutem Myokardinfarkt revaskularisiert wurden<sup>103</sup>. Für HCM-Patienten zeigte sich in unserer Patientenreihe dieser statistische Zusammenhang der klinischen Stadieneinteilung zu den peripheren OPN-Werten nicht. Während der Hauptanteil der Kohorte keine (n=12) oder milde (n=13) Dyspnoe zeigte, zeigten sich n=7 Patienten im NYHA-Stadium III. In den Studien von Rosenberg und Suezawa *et al.* wurden Patienten mit HFrEF rekrutiert. Während etwa 40% der HCM-Patienten in einer Studie von Pinamonti *et al.* Dyspnoe als klinisches Symptom aufzeigten, zeigten hiervon insgesamt nur 8% ein NYHA-Stadium III oder IV auf. Diese Verteilung bot sich auch in unserem Projekt: 40% der Patienten präsentierten Dyspnoe NYHA II und 22% NYHA III. Diese Verteilung lässt darauf schließen, dass eine HFrEF bei den wenigsten HCM-Patienten ursächlich für eine Dyspnoe ist. Diese ist in aller Regel das Resultat aus einer HFpEF. Wie oben beschrieben, konnte diese Arbeit einen Zusammenhang zwischen OPN und HFpEF aufzeigen. Auch für die Manifestation einer HFrEF war zumindest eine deutliche Tendenz zu höheren OPN-Werten zu beobachten. Die Verteilung der HCM-Patienten in den einzelnen NYHA-Stadien und die aufgeführten Beobachtungen im Rahmen dieser ungleich kleineren Studie erklären, warum sich kein Zusammenhang zwischen

der Höhe der OPN-Spiegeln und den NYHA-Stadien aufzeigen ließ. Es ist noch aufzuführen, dass die Stadieneinteilung anhand anamnestischer Daten zur Belastbarkeit erfolgte und diese somit subjektive Differenzierung eine Ungenauigkeit nach sich zieht.

#### **4.7 Risikostratifizierung**

Die aktuelle Datenlage zeigt, dass die klassischen Risikofaktoren in ein unzureichendes Modell der Risikostratifizierung münden. Ein neuer Ansatz ist die Fibrosedetektion und –quantifizierung. Ein morphologisches Korrelat ventrikulärer HRST, dass sich mittels moderner kardialer Bildgebung darstellen lässt, ist die IF. Sie stellt eine Art Leitungsbarriere dar und bildet potentielle Wiedereintrittspunkte (*micro reentries*) für kreisende Erregungen<sup>54</sup>. Quantifiziertes LGE, welches das bildmorphologische Korrelat der IF darstellt, zeigt einen Zusammenhang zu malignen HRST und nimmt einen deutlichen Einfluss auf die Prognose der HCM<sup>61,64</sup>. Ebenso korreliert das Ausmaß an LGE positiv mit dem Auftreten der etablierten Risikofaktoren<sup>60,63</sup>. Der Zusammenhang einer OPN-Erhöhung mit dem Auftreten etablierter Risikofaktoren ist dadurch denkbar. Auch ICD-Träger unter den HCM-Patienten könnten demnach im Durchschnitt erhöhte OPN-Werte aufweisen.

Diese Annahmen ließen sich nicht durch die Beobachtungen dieser Arbeit bestätigen. Die Grundannahme des möglichen Zusammenhanges basierte darauf, dass sich ein Zusammenhang zwischen LGE und in OPN-Plasmaspiegeln aufzeigen lässt. Dieser Zusammenhang ließ sich jedoch nicht herstellen. Dieses Ergebnis erklärt, warum sich in unserer Studie kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Risikofaktoren bzw. ICD/PM-Implantation und OPN hat zeigen lassen. Am Beispiel einer chronischen Herzinsuffizienz aufgrund von Ischämie bzw. bei Vorliegen einer DCM wurde die unabhängige, prognostische Wertigkeit von OPN vorbeschrieben. Diese sollte im Rahmen größerer, prospektiver Studien diese auch für die HCM erneut untersucht werden. Vor allem eine Änderung der OPN-Plasmaspiegel im Verlauf der Krankheit auf mögliche Zusammenhänge zu etablierten Risikofaktoren sollte dann geprüft werden.

#### **4.8 Koronare Herzkrankheit, obstruktives Schlafapnoe Syndrom, chronische Niereninsuffizienz**

## Diskussion

Es ist bekannt, dass OPN in verschiedenen Geweben exprimiert wird und in diversen Körperflüssigkeiten vorkommt. Für verschiedene Komorbiditäten sind erhöhte OPN-Plasmaspiegel vorbeschrieben. Diese wurden auch in dem aktuellen Projekt berücksichtigt. Es wurden Patienten eingeschlossen, bei denen eine KHK, ein OSAS bzw. eine NI bekannt waren. Dies ermöglichte im Vergleich zu einer Präselektion eine kliniknahe Heterogenität der Studienkohorte.

### 4.8.1 Koronare Herzkrankheit

Eine Koronare Herzkrankheit tritt insgesamt bei etwa 20% der HCM-Patienten auf. Ihr Auftreten verschlechtert die Prognose der HCM<sup>68</sup>. Innerhalb der Patientenkohorte unseres Projektes lag die Prävalenz bei 50%. Dies liegt in der Präselektion begründet, wie sie an einer großen Universitätsklinik mit einem hochspezialisierten Fachbereich für kardiovaskuläre Erkrankungen vorkommt. Ein Zusammenhang von OPN und atherosklerotischen Erkrankungen über die Schlüsselfunktion des Moleküls in der Aufrechterhaltung chronisch entzündlicher Prozesse ist vorbeschrieben<sup>84,156</sup>. Auch ist bekannt, dass eine vermehrte Expression in atherosklerotischen Plaques signifikant mit der Ausprägung einer KHK korreliert<sup>157</sup>. Im Rahmen dieser Studie hatte die Komorbidität KHK keinen Einfluss auf die peripheren OPN-Spiegel. Eine Einschränkung war, dass nur bei Vorliegen oder Abwesenheit einer KHK auf Änderungen der OPN-Spiegel getestet wurden, nicht die Ausprägung der KHK- beispielsweise im Sinne von koronarer Plaquelast. Generell deuten die gemachten Beobachtungen jedoch darauf hin, dass der Einfluss einer KHK auf den Plasmaspiegel von OPN vergleichsweise gering ausfällt und prinzipiell eine KHK kein Ausschlusskriterium darstellt. Es ist zu erwähnen, dass eine KHK die kardiale Manifestation der Atherosklerose darstellt. Diese kann generell alle Gefäße betreffen und auch undiagnostiziert auftreten. Die Menge an koronarer Plaquelast kann im Vergleich zur beispielsweise aortal manifestierten Atherosklerose relativ gering ausfallen. Ein peripher bestimmter Marker der allgemeinen Fibrose unterliegt somit sicherlich einer diagnostischen Ungenauigkeit bzw. gilt es, diese Einflüsse genauer zu untersuchen. Erst dann können valide Aussagen in Bezug auf den Einfluss einer Atherosklerose auf den peripheren OPN-Spiegel getroffen werden.

#### 4.8.2 Obstruktives Schlafapnoesyndrom

Auch bei OSAS sind erhöhte OPN-Plasmaspiegel beschrieben<sup>158</sup>. Adipositas, der Hauptrisikofaktor für die Entstehung eines OSAS, zeigt ebenfalls einen Zusammenhang zur Höhe der OPN-Plasmaspiegel<sup>159</sup>. Generell scheint jedoch nicht das alleinige Vorliegen eines OSAS in einer Zunahme von OPN zu resultieren, sondern die Ausprägung dieser mit Hypertonie einhergehenden Erkrankung<sup>158</sup>. Als Auslöser einer arteriellen Hypertonie, die in einer myokardialen Hypertrophie resultiert, ist ein Zusammenhang nicht unwahrscheinlich. OSAS sollte daher als möglicher Einflussfaktor berücksichtigt werden. Einen Einfluss auf die OPN-Werte, die einen Ausschluss von Patienten mit OSAS begründen würden, ließ sich für das Syndrom in dieser Studie nicht nachweisen.

#### 4.8.3 Chronische Niereninsuffizienz

Für das Vorliegen einer chronischen Niereninsuffizienz [NI] ist ein Zusammenhang zu einer Erhöhung von OPN-Plasmaspiegeln beschrieben worden<sup>160</sup>. Mit einer tubulo-interstitiellen Fibrose einhergehend, wird OPN in der Niere hauptsächlich im distalen Teil der Nephrone gebildet<sup>161</sup>. Analog der Beobachtungen für die Entstehung der IF, nimmt Aldosteron auch bei der renalen Fibrosierung eine Schlüsselfunktion ein<sup>162</sup>. Im Rahmen dieser Arbeit konnte eine Erhöhung von OPN-Plasmaspiegeln bei Vorliegen einer NI beobachtet werden. Diese war nicht signifikant, jedoch zeichnete sich eine deutliche Tendenz zu etwa 20% höheren Werten in der Gruppe der NI-Erkrankten ab. Diese Komorbidität übt einen Einfluss auf die OPN-Plasmaspiegel von HCM-Patienten aus und sollte daher im Rahmen größerer Vergleichsstudien als mögliches Ausschlusskriterium diskutiert werden.

Für Osteopontin, das deutlichen posttranslationalen Modifizierungen unterliegt, wurde gezeigt, dass drei Splice-Varianten, OPN-a, -b und -c, existieren und diese mittels *real-time* PCR in Geweben nachgewiesen werden können<sup>163</sup>. Es gilt zu prüfen, ob auch für die HCM eine spezifische Variante des OPN-Moleküls im erkrankten Gewebe nachzuweisen ist. Dies stellt eine Möglichkeit dar, unabhängig von Komorbiditäten, welche ihrerseits eine OPN-Erhöhung bewirken, einen Zusammenhang von peripher bestimmtem OPN zur Ausprägung der HCM aufzuzeigen.

#### 4.9. Ausblick

Die HCM als häufigste genetisch-bedingte Herzerkrankung<sup>1</sup> stellt einen hohen Anspruch an die Diagnostik im Allgemeinen sowie an die Risikostratifizierung im Speziellen. Osteopontin kann eine wichtige Ergänzung in der Diagnostik bei dieser in ihrer Ausprägung deutlich heterogenen Erkrankung bieten. Das Auftreten maligner HRST stellt die dramatischste Konsequenz der HCM dar. Diese werden nach aktueller Kenntnislage im Rahmen eines multikausalen Geschehens zu großem Teil durch IF verursacht<sup>61,64</sup>. Aufgrund der dargestellten Schlüsselfunktion von OPN in der Fibrogenese<sup>94</sup> bildet dieser Biomarker eine mögliche Ergänzung zu den etablierten Kriterien zur Identifikation jener Patienten, welche ein hohes Risiko für einen SCD aufweisen. Diese Kriterien erscheinen nach aktueller Datenlage unzureichend. Besonders verdeutlicht wird dies durch das Auftreten eines SCD bei Patienten, welche bei nachweisbarem Genotypen noch keinen Phänotypen ausgebildet haben<sup>32</sup>.

Eine wesentliche Herausforderung ergibt sich aus der geringen Spezifität des Markers. Eine Atherosklerose kann überall im Körper entstehen und das Herz bildet einen vergleichsweise kleinen möglichen Ursprungsort<sup>77</sup>. Peripher bestimmt bleibt somit unklar, ob eine Erhöhung von OPN auch mit einer zunehmenden Fibrosierung des Myokards einhergeht oder generell einen Marker des Schweregrades einer Grunderkrankung darstellt. Von Interesse ist, einen Zusammenhang eines Anstiegs des Markers im Verlauf der Krankheit mit zunehmender kardialer Funktionseinschränkung oder IF, beispielsweise repräsentiert in der LGE-MRT, zu untersuchen. Auch peripher bestimmt könnten sequenzielle Messungen einen Anhaltspunkt für einen kardialen Krankheitsprogress geben, unabhängig eines spezifischen Entstehungsortes des OPN. Die erwähnten Splice-Varianten<sup>163</sup> stellen einen vielversprechenden Ansatz dar, eine für die HCM spezifische Variante des OPN zu finden. Hier gilt es, durch weitere Untersuchungen zu prüfen, ob sich eine solche im erkrankten Myokard autoptisch bzw. bioptisch nachweisen lässt. Ließe sich diese dann auch im peripheren Blut messen, sollte analog dieses Projektes erneut ein Zusammenhang zu den etablierten Kriterien aus Diagnostik bzw. Risikostratifizierung untersucht werden.

Darüber hinaus stellen die oben erwähnten, neuartigen Untersuchungsmethoden für MRT (*T1-mapping*, Equilibrium-Kontrast-MRT)<sup>149,150</sup> bzw. TTE (3D basiertes *speckle-tracking*)<sup>140-142</sup> aussichtsreiche Optionen sensitiverer Diagnostik dar. Daten aus diesen ersten Studien lassen es zuversichtlich erscheinen, Risikopatienten noch frühzeitiger zu identifizieren. Auch diesbezüglich sollte geprüft werden, ob OPN eine stärkere Korrelation zu den Daten dieser wahrscheinlich sensitiveren diagnostischen Methoden zeigt.

## 5 Zusammenfassung

Die Hypertrophe Kardiomyopathie [HCM] ist die häufigste genetisch-bedingte Herzerkrankung. Sie wird durch Genmutationen verursacht, welche in der Konsequenz strukturelle Proteine des Myokards verändern. Makroskopisch morphologisches Hauptcharakteristikum ist die zumeist das Septum betreffende Hypertrophie. Auf mikroskopischer Ebene zeigen sich fehlgeordnete myokardiale Fibrillen sowie eine intramyokardiale Fibrose [IF]. Ein insgesamt seltenes, jedoch in seiner Konsequenz dramatisches Symptom ist zudem der plötzliche Herztod [SCD]. Patienten mit erhöhtem SCD-Risiko sollen im Rahmen einer fokussierten Risikostratifizierung identifiziert werden. Diagnostiziert wird eine HCM in aller Regel echokardiographisch. Gegebenenfalls wird dies im Weiteren durch eine kardiale MRT ergänzt, die durch Kontrastmittel-gestützte Untersuchungen IF valide zu detektieren, lokalisieren und quantifizieren vermag (LGE-MRT). Intramyokardiale Fibrose stellt nach heutigem Kenntnisstand ein morphologisches Substrat des SCD dar. In der Fibrogenese nimmt das Glykoprotein Osteopontin [OPN] eine Schlüsselfunktion ein. Zudem vermittelt es über komplexe Interaktionen eine myokardiale Hypertrophie. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden mögliche Zusammenhänge einer Erhöhung peripherer Serumkonzentrationen von OPN zu den etablierten diagnostischen Kriterien der HCM getestet. Zum ersten Mal konnte gezeigt werden, dass HCM-Patienten signifikant erhöhte OPN-Plasmaspiegel aufweisen. Auch korrelierte OPN signifikant positiv mit der in MRT und CT bestimmten linksventrikulären Muskelmasse [LVMM]. Ebenfalls ließ sich für eine diastolische Herzinsuffizienz [HFpEF], welche das klinisch häufige Symptom Dyspnoe bedingt, ein signifikanter Zusammenhang zu OPN-Werten darlegen. Widererwartens konnte keine signifikante Korrelation zu der Menge an LGE in der MRT bzw. Le in der CT, welche nachgewiesenen IF repräsentiert, belegt werden. Auch zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zu den etablierten Kriterien der Risikostratifizierung. Konsequenz dieser Arbeit ist es, in größer angelegten, multizentrischen Studien zu prüfen, ob OPN als zusätzlicher Marker in der kardiovaskulären Risikostratifizierung und Diagnostik einen Gewinn bringen kann. Bei HCM-Patienten geben zudem neue Techniken der kardialen Bildgebung aber auch der Labormedizin Anlass, Zusammenhänge mit OPN genauer darzulegen. Eine dadurch verbesserte komplementäre Diagnostik könnte die diagnostische Genauigkeit beim *Work-up* von HCM-Patienten erhöhen.

## 6 Literaturverzeichnis

- 1 Maron, B. J. *et al.* Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation* **92**, 785-789 (1995).
- 2 Maron, B. J. Hypertrophic cardiomyopathy: an important global disease. *The American journal of medicine* **116**, 63-65 (2004).
- 3 Olivotto, I. *et al.* Gender-related differences in the clinical presentation and outcome of hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **46**, 480-487, doi:10.1016/j.jacc.2005.04.043 (2005).
- 4 Maron, B. J. *et al.* Clinical course of hypertrophic cardiomyopathy in a regional United States cohort. *Jama* **281**, 650-655 (1999).
- 5 Maron, B. J. *et al.* Epidemiology of hypertrophic cardiomyopathy-related death: revisited in a large non-referral-based patient population. *Circulation* **102**, 858-864 (2000).
- 6 Maron, B. J. *et al.* Development of left ventricular hypertrophy in adults in hypertrophic cardiomyopathy caused by cardiac myosin-binding protein C gene mutations. *J Am Coll Cardiol* **38**, 315-321 (2001).
- 7 Maron, B. J. *et al.* American College of Cardiology/European Society of Cardiology clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* **42**, 1687-1713 (2003).
- 8 Maron, B. J. Contemporary insights and strategies for risk stratification and prevention of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **121**, 445-456, doi:10.1161/circulationaha.109.878579 (2010).
- 9 Maron, B. J. *et al.* Efficacy of implantable cardioverter-defibrillators for the prevention of sudden death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* **342**, 365-373, doi:10.1056/NEJM200002103420601 (2000).
- 10 Maron, B. J. *et al.* Implantable cardioverter-defibrillators and prevention of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *JAMA* **298**, 405-412, doi:10.1001/jama.298.4.405 (2007).
- 11 Frey, N., Luedde, M. & Katus, H. A. Mechanisms of disease: hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol* **9**, 91-100, doi:10.1038/nrcardio.2011.159 (2012).
- 12 Maron, B. J., Doerer, J. J., Haas, T. S., Tierney, D. M. & Mueller, F. O. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation* **119**, 1085-1092, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.804617 (2009).
- 13 Prinz, C., Farr, M., Hering, D., Horstkotte, D. & Faber, L. The diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy. *Deutsches Arzteblatt international* **108**, 209-215, doi:10.3238/arztebl.2011.0209 (2011).

- 14 Gersh, B. J. *et al.* 2011 ACCF/AHA Guideline for the Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* **58**, e212-260, doi:10.1016/j.jacc.2011.06.011 (2011).
- 15 Niimura, H. *et al.* Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* **338**, 1248-1257, doi:10.1056/NEJM199804303381802 (1998).
- 16 Maron, B. J., Maron, M. S. & Semsarian, C. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: clinical perspectives. *J Am Coll Cardiol* **60**, 705-715, doi:10.1016/j.jacc.2012.02.068 (2012).
- 17 McLeod, C. J. *et al.* Histologic characterization of hypertrophic cardiomyopathy with and without myofilament mutations. *Am Heart J* **158**, 799-805, doi:10.1016/j.ahj.2009.09.006 (2009).
- 18 Klues, H. G., Schiffers, A. & Maron, B. J. Phenotypic spectrum and patterns of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: morphologic observations and significance as assessed by two-dimensional echocardiography in 600 patients. *J Am Coll Cardiol* **26**, 1699-1708, doi:10.1016/0735-1097(95)00390-8 (1995).
- 19 Maron, M. S. *et al.* Hypertrophic cardiomyopathy phenotype revisited after 50 years with cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* **54**, 220-228, doi:10.1016/j.jacc.2009.05.006 (2009).
- 20 Spirito, P., Seidman, C. E., McKenna, W. J. & Maron, B. J. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* **336**, 775-785, doi:10.1056/NEJM199703133361107 (1997).
- 21 Maron, M. S. *et al.* Right ventricular involvement in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* **100**, 1293-1298, doi:10.1016/j.amjcard.2007.05.061 (2007).
- 22 Maron, B. J. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA* **287**, 1308-1320 (2002).
- 23 Klues, H. G., Roberts, W. C. & Maron, B. J. Anomalous insertion of papillary muscle directly into anterior mitral leaflet in hypertrophic cardiomyopathy. Significance in producing left ventricular outflow obstruction. *Circulation* **84**, 1188-1197 (1991).
- 24 Kwon, D. H. *et al.* Abnormal papillary muscle morphology is independently associated with increased left ventricular outflow tract obstruction in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* **94**, 1295-1301, doi:10.1136/hrt.2007.118018 (2008).
- 25 Maron, M. S. *et al.* Effect of left ventricular outflow tract obstruction on clinical outcome in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* **348**, 295-303, doi:10.1056/NEJMoa021332 (2003).
- 26 Maron, B. J. & Epstein, S. E. Hypertrophic cardiomyopathy: a discussion of nomenclature. *Am J Cardiol* **43**, 1242-1244 (1979).
- 27 Maron, B. J., Yeates, L. & Semsarian, C. Clinical challenges of genotype positive (+)-phenotype negative (-) family members in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* **107**, 604-608, doi:10.1016/j.amjcard.2010.10.022 (2011).



- 28 Ho, C. Y. *et al.* Assessment of diastolic function with Doppler tissue imaging to predict genotype in preclinical hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **105**, 2992-2997 (2002).
- 29 Maron, M. S. *et al.* Mitral valve abnormalities identified by cardiovascular magnetic resonance represent a primary phenotypic expression of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **124**, 40-47, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.985812 (2011).
- 30 Rowin, E. J., Maron, M. S., Lesser, J. R. & Maron, B. J. CMR with late gadolinium enhancement in genotype positive-phenotype negative hypertrophic cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Imaging* **5**, 119-122, doi:10.1016/j.jcmg.2011.08.020 (2012).
- 31 Ho, C. Y. *et al.* Myocardial fibrosis as an early manifestation of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* **363**, 552-563, doi:10.1056/NEJMoa1002659 (2010).
- 32 Christiaans, I., Lekanne dit Deprez, R. H., van Langen, I. M. & Wilde, A. A. Ventricular fibrillation in MYH7-related hypertrophic cardiomyopathy before onset of ventricular hypertrophy. *Heart Rhythm* **6**, 1366-1369, doi:10.1016/j.hrthm.2009.04.029 (2009).
- 33 Maron, B. J. *et al.* Noninvasive assessment of left ventricular diastolic function by pulsed Doppler echocardiography in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **10**, 733-742 (1987).
- 34 Thierfelder, L. *et al.* Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* **77**, 701-712 (1994).
- 35 Maron, B. J., Nishimura, R. A. & Danielson, G. K. Pitfalls in clinical recognition and a novel operative approach for hypertrophic cardiomyopathy with severe outflow obstruction due to anomalous papillary muscle. *Circulation* **98**, 2505-2508 (1998).
- 36 Konno, T. *et al.* Heterogeneous myocyte enhancer factor-2 (Mef2) activation in myocytes predicts focal scarring in hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 18097-18102, doi:10.1073/pnas.1012826107 (2010).
- 37 Lombardi, R. *et al.* Myocardial collagen turnover in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **108**, 1455-1460, doi:10.1161/01.CIR.0000090687.97972.10 (2003).
- 38 Weber, K. T. Monitoring tissue repair and fibrosis from a distance. *Circulation* **96**, 2488-2492 (1997).
- 39 Wynn, T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* **214**, 199-210, doi:10.1002/path.2277 (2008).
- 40 Zeisberg, E. M. *et al.* Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* **13**, 952-961, doi:10.1038/nm1613 (2007).
- 41 Fan, D., Takawale, A., Lee, J. & Kassiri, Z. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis Tissue Repair* **5**, 15, doi:10.1186/1755-1536-5-15 (2012).
- 42 Camelliti, P., Borg, T. K. & Kohl, P. Structural and functional characterisation of cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res* **65**, 40-51, doi:10.1016/j.cardiores.2004.08.020 (2005).
- 43 Baum, J. & Duffy, H. S. Fibroblasts and myofibroblasts: what are we talking about? *J Cardiovasc Pharmacol* **57**, 376-379, doi:10.1097/FJC.0b013e3182116e39 (2011).

- 44 Crilley, J. G. *et al.* Hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric gene mutations is characterized by impaired energy metabolism irrespective of the degree of hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* **41**, 1776-1782 (2003).
- 45 Tardiff, J. C. Sarcomeric proteins and familial hypertrophic cardiomyopathy: linking mutations in structural proteins to complex cardiovascular phenotypes. *Heart Fail Rev* **10**, 237-248, doi:10.1007/s10741-005-5253-5 (2005).
- 46 Teekakirikul, P. *et al.* Cardiac fibrosis in mice with hypertrophic cardiomyopathy is mediated by non-myocyte proliferation and requires Tgf-beta. *J Clin Invest* **120**, 3520-3529, doi:10.1172/JCI42028 (2010).
- 47 Kim, J. B. *et al.* Polony multiplex analysis of gene expression (PMAGE) in mouse hypertrophic cardiomyopathy. *Science* **316**, 1481-1484, doi:10.1126/science.1137325 (2007).
- 48 Harris, K. M. *et al.* Prevalence, clinical profile, and significance of left ventricular remodeling in the end-stage phase of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **114**, 216-225, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.583500 (2006).
- 49 Elliott, P. M. *et al.* 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* **35**, 2733-2779, doi:10.1093/eurheartj/ehu284 (2014).
- 50 Levy, S. *et al.* Atrial fibrillation: current knowledge and recommendations for management. Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* **19**, 1294-1320 (1998).
- 51 Kannel, W. B., Abbott, R. D., Savage, D. D. & McNamara, P. M. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. *N Engl J Med* **306**, 1018-1022, doi:10.1056/NEJM198204293061703 (1982).
- 52 Olivetto, I. *et al.* Impact of atrial fibrillation on the clinical course of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **104**, 2517-2524 (2001).
- 53 Guttman, O. P., Rahman, M. S., O'Mahony, C., Anastasakis, A. & Elliott, P. M. Atrial fibrillation and thromboembolism in patients with hypertrophic cardiomyopathy: systematic review. *Heart* **100**, 465-472, doi:10.1136/heartjnl-2013-304276 (2014).
- 54 Rubart, M. & Zipes, D. P. Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest* **115**, 2305-2315, doi:10.1172/JCI26381 (2005).
- 55 Rickers, C. *et al.* Utility of cardiac magnetic resonance imaging in the diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **112**, 855-861, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.507723 (2005).
- 56 Nagueh, S. F. *et al.* Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr* **10**, 165-193, doi:10.1093/ejechocard/jep007 (2009).
- 57 O'Hanlon, R., Assomull, R. G. & Prasad, S. K. Use of cardiovascular magnetic resonance for diagnosis and management in hypertrophic cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rep* **9**, 51-56 (2007).

- 58 Olivotto, I. *et al.* Assessment and significance of left ventricular mass by cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **52**, 559-566, doi:10.1016/j.jacc.2008.04.047 (2008).
- 59 Maron, M. S. *et al.* Clinical profile and significance of delayed enhancement in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* **1**, 184-191, doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.768119 (2008).
- 60 Rubinshtein, R. *et al.* Characteristics and clinical significance of late gadolinium enhancement by contrast-enhanced magnetic resonance imaging in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* **3**, 51-58, doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.854026 (2010).
- 61 O'Hanlon, R. *et al.* Prognostic significance of myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **56**, 867-874, doi:10.1016/j.jacc.2010.05.010 (2010).
- 62 Choudhury, L. *et al.* Myocardial scarring in asymptomatic or mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **40**, 2156-2164 (2002).
- 63 Adabag, A. S. *et al.* Occurrence and frequency of arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy in relation to delayed enhancement on cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* **51**, 1369-1374, doi:10.1016/j.jacc.2007.11.071 (2008).
- 64 Prinz, C. *et al.* Myocardial fibrosis severity on cardiac magnetic resonance imaging predicts sustained arrhythmic events in hypertrophic cardiomyopathy. *Can J Cardiol* **29**, 358-363, doi:10.1016/j.cjca.2012.05.004 (2013).
- 65 Papavassiliu, T. *et al.* CMR findings in patients with hypertrophic cardiomyopathy and atrial fibrillation. *J Cardiovasc Magn Reson* **11**, 34, doi:10.1186/1532-429X-11-34 (2009).
- 66 Yamaji, K. *et al.* Does the progression of myocardial fibrosis lead to atrial fibrillation in patients with hypertrophic cardiomyopathy? *Cardiovasc Pathol* **10**, 297-303 (2001).
- 67 Langer, C. *et al.* Hypertrophic cardiomyopathy in cardiac CT: a validation study on the detection of intramyocardial fibrosis in consecutive patients. *Int J Cardiovasc Imaging* **30**, 659-667, doi:10.1007/s10554-013-0358-8 (2014).
- 68 Sorajja, P. *et al.* Adverse prognosis of patients with hypertrophic cardiomyopathy who have epicardial coronary artery disease. *Circulation* **108**, 2342-2348, doi:10.1161/01.CIR.0000097110.55312.BF (2003).
- 69 Mehra, M. R. *et al.* Listing criteria for heart transplantation: International Society for Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates--2006. *J Heart Lung Transplant* **25**, 1024-1042, doi:10.1016/j.healun.2006.06.008 (2006).
- 70 Kuhn, H. *et al.* Survival after transcatheter ablation of septal hypertrophy in hypertrophic obstructive cardiomyopathy (TASH): a 10 year experience. *Clin Res Cardiol* **97**, 234-243, doi:10.1007/s00392-007-0616-7 (2008).
- 71 Mitsutake, R., Miura, S., Sako, H., Nishikawa, H. & Saku, K. Usefulness of multi-detector row computed tomography for the management of percutaneous transluminal septal myocardial ablation in patient with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Int J Cardiol* **129**, e61-63, doi:10.1016/j.ijcard.2007.06.132 (2008).

- 72 Leone, O. *et al.* 2011 consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol* **21**, 245-274, doi:10.1016/j.carpath.2011.10.001 (2012).
- 73 Jellis, C., Martin, J., Narula, J. & Marwick, T. H. Assessment of nonischemic myocardial fibrosis. *J Am Coll Cardiol* **56**, 89-97, doi:10.1016/j.jacc.2010.02.047 (2010).
- 74 Querejeta, R. *et al.* Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Circulation* **101**, 1729-1735 (2000).
- 75 Prinz, C. *et al.* Determining the role of fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Expert Rev Cardiovasc Ther* **11**, 495-504, doi:10.1586/erc.13.24 (2013).
- 76 Fassbach, M. & Schwartzkopff, B. Elevated serum markers for collagen synthesis in patients with hypertrophic cardiomyopathy and diastolic dysfunction. *Z Kardiol* **94**, 328-335, doi:10.1007/s00392-005-0214-5 (2005).
- 77 Ellims, A. H. *et al.* Evaluating the utility of circulating biomarkers of collagen synthesis in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* **7**, 271-278, doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000665 (2014).
- 78 Frangogiannis, N. G. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. *Physiol Rev* **92**, 635-688, doi:10.1152/physrev.00008.2011 (2012).
- 79 Singh, M., Foster, C. R., Dalal, S. & Singh, K. Osteopontin: role in extracellular matrix deposition and myocardial remodeling post-MI. *J Mol Cell Cardiol* **48**, 538-543, doi:10.1016/j.yjmcc.2009.06.015 (2010).
- 80 Wolak, T. Osteopontin - a multi-modal marker and mediator in atherosclerotic vascular disease. *Atherosclerosis* **236**, 327-337, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.07.004 (2014).
- 81 Singh, M., Dalal, S. & Singh, K. Osteopontin: At the cross-roads of myocyte survival and myocardial function. *Life Sci* **118**, 1-6, doi:10.1016/j.lfs.2014.09.014 (2014).
- 82 O'Regan, A. W. *et al.* Osteopontin is associated with T cells in sarcoid granulomas and has T cell adhesive and cytokine-like properties in vitro. *J Immunol* **162**, 1024-1031 (1999).
- 83 Kazanecki, C. C., Uzwiak, D. J. & Denhardt, D. T. Control of osteopontin signaling and function by post-translational phosphorylation and protein folding. *J Cell Biochem* **102**, 912-924, doi:10.1002/jcb.21558 (2007).
- 84 Scatena, M., Liaw, L. & Giachelli, C. M. Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **27**, 2302-2309, doi:10.1161/ATVBAHA.107.144824 (2007).
- 85 Yokosaki, Y. *et al.* The integrin alpha(9)beta(1) binds to a novel recognition sequence (SVVYGLR) in the thrombin-cleaved amino-terminal fragment of osteopontin. *J Biol Chem* **274**, 36328-36334 (1999).
- 86 Daniel, L., Joyner, W., Singh, M. & Singh, K. in *Aging and Heart Failure* (ed Bodh I. Jugdutt) Ch. 27, 401-410 (Springer New York, 2014).
- 87 Denhardt, D. T., Noda, M., O'Regan, A. W., Pavlin, D. & Berman, J. S. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue

- remodeling, and cell survival. *J Clin Invest* **107**, 1055-1061, doi:10.1172/JCI12980 (2001).
- 88 Dalal, S. *et al.* Osteopontin stimulates apoptosis in adult cardiac myocytes via the involvement of CD44 receptors, mitochondrial death pathway, and endoplasmic reticulum stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **306**, H1182-1191, doi:10.1152/ajpheart.00954.2013 (2014).
- 89 Ashizawa, N. *et al.* Osteopontin is produced by rat cardiac fibroblasts and mediates A(II)-induced DNA synthesis and collagen gel contraction. *J Clin Invest* **98**, 2218-2227, doi:10.1172/JCI119031 (1996).
- 90 O'Brien, E. R. *et al.* Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb* **14**, 1648-1656 (1994).
- 91 Graf, K. *et al.* Myocardial osteopontin expression is associated with left ventricular hypertrophy. *Circulation* **96**, 3063-3071 (1997).
- 92 Singh, K., Balligand, J. L., Fischer, T. A., Smith, T. W. & Kelly, R. A. Glucocorticoids increase osteopontin expression in cardiac myocytes and microvascular endothelial cells. Role in regulation of inducible nitric oxide synthase. *J Biol Chem* **270**, 28471-28478 (1995).
- 93 Singh, M., Foster, C. R., Dalal, S. & Singh, K. Role of osteopontin in heart failure associated with aging. *Heart Fail Rev* **15**, 487-494, doi:10.1007/s10741-010-9158-6 (2010).
- 94 Lenga, Y. *et al.* Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation. *Circ Res* **102**, 319-327, doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.160408 (2008).
- 95 Mazzali, M. *et al.* Osteopontin--a molecule for all seasons. *QJM* **95**, 3-13 (2002).
- 96 Wolak, T. *et al.* Osteopontin modulates angiotensin II-induced inflammation, oxidative stress, and fibrosis of the kidney. *Kidney Int* **76**, 32-43, doi:10.1038/ki.2009.90 (2009).
- 97 Collins, A. R. *et al.* Osteopontin modulates angiotensin II-induced fibrosis in the intact murine heart. *J Am Coll Cardiol* **43**, 1698-1705, doi:10.1016/j.jacc.2003.11.058 (2004).
- 98 Subramanian, V., Krishnamurthy, P., Singh, K. & Singh, M. Lack of osteopontin improves cardiac function in streptozotocin-induced diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **292**, H673-683, doi:10.1152/ajpheart.00569.2006 (2007).
- 99 Renault, M. A. *et al.* Osteopontin expression in cardiomyocytes induces dilated cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* **3**, 431-439, doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.898114 (2010).
- 100 Singh, K. *et al.* Myocardial osteopontin expression coincides with the development of heart failure. *Hypertension* **33**, 663-670 (1999).
- 101 Stawowy, P. *et al.* Increased myocardial expression of osteopontin in patients with advanced heart failure. *Eur J Heart Fail* **4**, 139-146 (2002).
- 102 Tamura, A., Shingai, M., Aso, N., Hazuku, T. & Nasu, M. Osteopontin is released from the heart into the coronary circulation in patients with a previous anterior wall myocardial infarction. *Circ J* **67**, 742-744 (2003).

- 103 Suezawa, C. *et al.* Time-dependent changes in plasma osteopontin levels in patients with anterior-wall acute myocardial infarction after successful reperfusion: correlation with left-ventricular volume and function. *J Lab Clin Med* **145**, 33-40, doi:10.1016/j.lab.2004.08.007 (2005).
- 104 Rosenberg, M. *et al.* Osteopontin, a new prognostic biomarker in patients with chronic heart failure. *Circ Heart Fail* **1**, 43-49, doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.107.746172 (2008).
- 105 Evangelista, A. *et al.* European Association of Echocardiography recommendations for standardization of performance, digital storage and reporting of echocardiographic studies. *Eur J Echocardiogr* **9**, 438-448, doi:10.1093/ejechocard/jen174 (2008).
- 106 Paulus, W. J. *et al.* How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* **28**, 2539-2550, doi:10.1093/eurheartj/ehm037 (2007).
- 107 Nishimura, R. A. & Tajik, A. J. Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosetta Stone. *J Am Coll Cardiol* **30**, 8-18 (1997).
- 108 Lang, R. M. *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* **18**, 1440-1463, doi:10.1016/j.echo.2005.10.005 (2005).
- 109 Lang, R. M. *et al.* Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* **16**, 233-270, doi:10.1093/ehjci/jev014 (2015).
- 110 Abbara, S. *et al.* SCCT guidelines for performance of coronary computed tomographic angiography: a report of the Society of Cardiovascular Computed Tomography Guidelines Committee. *J Cardiovasc Comput Tomogr* **3**, 190-204, doi:10.1016/j.jcct.2009.03.004 (2009).
- 111 Halliburton, S. S. *et al.* SCCT guidelines on radiation dose and dose-optimization strategies in cardiovascular CT. *J Cardiovasc Comput Tomogr* **5**, 198-224, doi:10.1016/j.jcct.2011.06.001 (2011).
- 112 Langer, C. *et al.* Myocardial Fibrosis in Hypertrophic Cardiomyopathy: Volumetric Assessment of Late Enhancement Provided by Cardiac Computed Tomography. *J Comput Assist Tomogr* **39**, 797-803, doi:10.1097/RCT.0000000000000272 (2015).
- 113 Schulz-Menger, J. *et al.* Standardized image interpretation and post processing in cardiovascular magnetic resonance: Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) board of trustees task force on standardized post processing. *J Cardiovasc Magn Reson* **15**, 35, doi:10.1186/1532-429X-15-35 (2013).
- 114 Cerqueira, M. D. *et al.* Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. A statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association. *Int J Cardiovasc Imaging* **18**, 539-542 (2002).

- 115 Huber, A. M. *et al.* Phase-sensitive inversion-recovery MR imaging in the detection of myocardial infarction. *Radiology* **237**, 854-860, doi:10.1148/radiol.2373041483 (2005).
- 116 Huber, A. *et al.* Phase-sensitive inversion recovery (PSIR) single-shot TrueFISP for assessment of myocardial infarction at 3 tesla. *Invest Radiol* **41**, 148-153 (2006).
- 117 Kellman, P., Arai, A. E., McVeigh, E. R. & Aletras, A. H. Phase-sensitive inversion recovery for detecting myocardial infarction using gadolinium-delayed hyperenhancement. *Magn Reson Med* **47**, 372-383 (2002).
- 118 Armstrong, A. C. *et al.* LV mass assessed by echocardiography and CMR, cardiovascular outcomes, and medical practice. *JACC Cardiovasc Imaging* **5**, 837-848, doi:10.1016/j.jcmg.2012.06.003 (2012).
- 119 Missouris, C. G. *et al.* Echocardiography overestimates left ventricular mass: a comparative study with magnetic resonance imaging in patients with hypertension. *J Hypertens* **14**, 1005-1010 (1996).
- 120 Bottini, P. B. *et al.* Magnetic resonance imaging compared to echocardiography to assess left ventricular mass in the hypertensive patient. *Am J Hypertens* **8**, 221-228, doi:10.1016/0895-7061(94)00178-E (1995).
- 121 Lipshultz, S. E. *et al.* Reliability of multicenter pediatric echocardiographic measurements of left ventricular structure and function: the prospective P(2)C(2) HIV study. *Circulation* **104**, 310-316 (2001).
- 122 Palmieri, V. *et al.* Reliability of echocardiographic assessment of left ventricular structure and function: the PRESERVE study. Prospective Randomized Study Evaluating Regression of Ventricular Enlargement. *J Am Coll Cardiol* **34**, 1625-1632 (1999).
- 123 Alfakih, K. *et al.* A comparison of left ventricular mass between two-dimensional echocardiography, using fundamental and tissue harmonic imaging, and cardiac MRI in patients with hypertension. *Eur J Radiol* **52**, 103-109, doi:10.1016/j.ejrad.2003.09.015 (2004).
- 124 Perdrix, L. *et al.* How to calculate left ventricular mass in routine practice? An echocardiographic versus cardiac magnetic resonance study. *Arch Cardiovasc Dis* **104**, 343-351, doi:10.1016/j.acvd.2011.04.003 (2011).
- 125 Kilickap, M. *et al.* Intravascular volume dependency of left ventricular mass calculation by two-dimensional guided M-mode echocardiography. *Can J Cardiol* **23**, 219-222 (2007).
- 126 Pinamonti, B. *et al.* The progression of left ventricular systolic and diastolic dysfunctions in hypertrophic cardiomyopathy: clinical and prognostic significance. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* **11**, 669-677, doi:10.2459/JCM.0b013e3283383355 (2010).
- 127 Rakowski, H. & Carasso, S. Quantifying diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy: the ongoing search for the holy grail. *Circulation* **116**, 2662-2665, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.742395 (2007).
- 128 Geske, J. B., Sorajja, P., Nishimura, R. A. & Ommen, S. R. Evaluation of left ventricular filling pressures by Doppler echocardiography in patients with hypertrophic cardiomyopathy: correlation with direct left atrial pressure measurement

- at cardiac catheterization. *Circulation* **116**, 2702-2708, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.698985 (2007).
- 129 Nagueh, S. F. *et al.* Tissue Doppler imaging consistently detects myocardial abnormalities in patients with hypertrophic cardiomyopathy and provides a novel means for an early diagnosis before and independently of hypertrophy. *Circulation* **104**, 128-130 (2001).
  - 130 Arrighi, J. A. & Soufer, R. Left ventricular diastolic function: physiology, methods of assessment, and clinical significance. *J Nucl Cardiol* **2**, 525-543 (1995).
  - 131 Weber, K. T., Brilla, C. G. & Janicki, J. S. Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res* **27**, 341-348 (1993).
  - 132 Kass, D. A., Bronzwaer, J. G. & Paulus, W. J. What mechanisms underlie diastolic dysfunction in heart failure? *Circ Res* **94**, 1533-1542, doi:10.1161/01.RES.0000129254.25507.d6 (2004).
  - 133 Burlew, B. S. & Weber, K. T. Cardiac fibrosis as a cause of diastolic dysfunction. *Herz* **27**, 92-98 (2002).
  - 134 Brilla, C. G., Funck, R. C. & Rupp, H. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. *Circulation* **102**, 1388-1393 (2000).
  - 135 MacKenna, D. A., Omens, J. H., McCulloch, A. D. & Covell, J. W. Contribution of collagen matrix to passive left ventricular mechanics in isolated rat hearts. *Am J Physiol* **266**, H1007-1018 (1994).
  - 136 Shah, P. M. Hypertrophic cardiomyopathy and diastolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* **42**, 286-287 (2003).
  - 137 Urbano Moral, J. A. *et al.* Left ventricular twist mechanics in hypertrophic cardiomyopathy assessed by three-dimensional speckle tracking echocardiography. *Am J Cardiol* **108**, 1788-1795, doi:10.1016/j.amjcard.2011.07.047 (2011).
  - 138 Carasso, S. *et al.* Systolic myocardial mechanics in hypertrophic cardiomyopathy: novel concepts and implications for clinical status. *J Am Soc Echocardiogr* **21**, 675-683, doi:10.1016/j.echo.2007.10.021 (2008).
  - 139 Maciver, D. H. A new method for quantification of left ventricular systolic function using a corrected ejection fraction. *Eur J Echocardiogr* **12**, 228-234, doi:10.1093/ejechocard/jeq185 (2011).
  - 140 Pouleur, H., Rousseau, M. F., van Eyll, C., Brasseur, L. A. & Charlier, A. A. Force-velocity-length relations in hypertrophic cardiomyopathy: evidence of normal or depressed myocardial contractility. *Am J Cardiol* **52**, 813-817 (1983).
  - 141 Marian, A. J. Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* **355**, 58-60 (2000).
  - 142 Urbano-Moral, J. A., Rowin, E. J., Maron, M. S., Crean, A. & Pandian, N. G. Investigation of global and regional myocardial mechanics with 3-dimensional speckle tracking echocardiography and relations to hypertrophy and fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Imaging* **7**, 11-19, doi:10.1161/CIRCIMAGING.113.000842 (2014).



- 143 Shah, J. S. *et al.* Prevalence of exercise-induced left ventricular outflow tract obstruction in symptomatic patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* **94**, 1288-1294, doi:10.1136/hrt.2007.126003 (2008).
- 144 Sherrid, M. V., Gunsburg, D. Z., Moldenhauer, S. & Pearle, G. Systolic anterior motion begins at low left ventricular outflow tract velocity in obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **36**, 1344-1354 (2000).
- 145 Geske, J. B., Sorajja, P., Ommen, S. R. & Nishimura, R. A. Left ventricular outflow tract gradient variability in hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Cardiol* **32**, 397-402, doi:10.1002/clc.20594 (2009).
- 146 Grothues, F. *et al.* Comparison of interstudy reproducibility of cardiovascular magnetic resonance with two-dimensional echocardiography in normal subjects and in patients with heart failure or left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol* **90**, 29-34 (2002).
- 147 Flett, A. S. *et al.* Evaluation of techniques for the quantification of myocardial scar of differing etiology using cardiac magnetic resonance. *JACC Cardiovasc Imaging* **4**, 150-156, doi:10.1016/j.jcmg.2010.11.015 (2011).
- 148 Moreo, A. *et al.* Influence of myocardial fibrosis on left ventricular diastolic function: noninvasive assessment by cardiac magnetic resonance and echo. *Circ Cardiovasc Imaging* **2**, 437-443, doi:10.1161/CIRCIMAGING.108.838367 (2009).
- 149 Kehr, E., Sono, M., Chugh, S. S. & Jerosch-Herold, M. Gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for detection and quantification of fibrosis in human myocardium in vitro. *Int J Cardiovasc Imaging* **24**, 61-68, doi:10.1007/s10554-007-9223-y (2008).
- 150 Flett, A. S. *et al.* Equilibrium contrast cardiovascular magnetic resonance for the measurement of diffuse myocardial fibrosis: preliminary validation in humans. *Circulation* **122**, 138-144, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.930636 (2010).
- 151 Yakar Tuluçe, S. *et al.* Galectin-3 levels in patients with hypertrophic cardiomyopathy and its relationship with left ventricular mass index and function. *Anatol J Cardiol* **16**, 344-348, doi:10.5152/AnatolJCardiol.2015.6191 (2016).
- 152 Shivakumar, K., Dostal, D. E., Boheler, K., Baker, K. M. & Lakatta, E. G. Differential response of cardiac fibroblasts from young adult and senescent rats to ANG II. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **284**, H1454-1459, doi:10.1152/ajpheart.00766.2002 (2003).
- 153 Lim, D. S. *et al.* Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **103**, 789-791 (2001).
- 154 Tsybouleva, N. *et al.* Aldosterone, through novel signaling proteins, is a fundamental molecular bridge between the genetic defect and the cardiac phenotype of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **109**, 1284-1291, doi:10.1161/01.CIR.0000121426.43044.2B (2004).
- 155 Lechin, M. *et al.* Angiotensin-I converting enzyme genotypes and left ventricular hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **92**, 1808-1812 (1995).

- 156 Singh, M., Ananthula, S., Milhorn, D. M., Krishnaswamy, G. & Singh, K. Osteopontin: a novel inflammatory mediator of cardiovascular disease. *Front Biosci* **12**, 214-221 (2007).
- 157 Schoenhagen, P. Osteopontin, coronary calcification, and cardiovascular events: future diagnostic and therapeutic targets for disease prevention? *Eur Heart J* **27**, 766-767, doi:10.1093/eurheartj/ehi743 (2006).
- 158 Sarac, F. *et al.* Association of osteopontin and tumor necrosis factor-alpha levels with insulin resistance in obese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *J Endocrinol Invest* **34**, 528-533, doi:10.3275/7287 (2011).
- 159 Gomez-Ambrosi, J. *et al.* Plasma osteopontin levels and expression in adipose tissue are increased in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* **92**, 3719-3727, doi:10.1210/jc.2007-0349 (2007).
- 160 Barreto, D. V. *et al.* Prognostic implication of plasma osteopontin levels in patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* **117**, c363-372, doi:10.1159/000321520 (2011).
- 161 Xie, Y. *et al.* Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney Int* **60**, 1645-1657, doi:10.1046/j.1523-1755.2001.00032.x (2001).
- 162 Schoenhagen, P., Barreto, M. & Halliburton, S. S. Quantitative plaque characterization with coronary CT angiography (CTA): current challenges and future application in atherosclerosis trials and clinical risk assessment. *Int J Cardiovasc Imaging* **24**, 313-316, doi:10.1007/s10554-007-9284-y (2008).
- 163 He, B., Mirza, M. & Weber, G. F. An osteopontin splice variant induces anchorage independence in human breast cancer cells. *Oncogene* **25**, 2192-2202, doi:10.1038/sj.onc.1209248 (2006).

## 7 Anhang

### 7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kardiale MRT – basolaterales LGE im Sinne eines Fibrosenachweises (rote Umrandung) .....	6
Abbildung 2: Kardio CT – mitventrikuläres late enhancement in loco typico an der Insertionsstelle des rechten Ventrikels und im Bereich der Lateralwand (rote Umrandungen) .....	6
Abbildung 3: Schematischer Ablauf einer Sandwich-ELISA .....	11
Abbildung 4: Box-Whiskers-Plot der OPN-MWs Patientengruppe und Kontrollgruppe .....	23
Abbildung 5: Box-Whiskers-Plot der LVMMs Patienten- und Kontrollgruppe .....	23
Abbildung 6: Regressionsgerade der Spearman Rho-Korrelation von OPN zu LVMM über Patienten- und Kontrollgruppe .....	24
Abbildung 7: Box-Whiskers-Plot der Herzindizes Patienten- und Kontrollgruppe .....	25
Abbildung 8: Regressionsgerade der Spearman Rho-Korrelation von OPN zu E/E' über die gesamte Studienkohorte .....	27
Abbildung 9: Box-Whiskers-Plot Grad diastolische Dysfunktion Patienten- und Kontrollgruppe .....	28
Abbildung 10: Regressionsgerade der Pearson-Korrelation von OPN zu MRT-basierter LVMM .....	29
Abbildung 11: Regressionsgerade der Pearson-Korrelation von OPN zu CT-basierter LVMM .....	29

### 7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der HFpEF Stadien nach Nishimura und Tajik .....	12
Tabelle 2: Biometrische, funktionelle und morphologische Daten der Patientengruppe .....	16
Tabelle 3: Biometrische Daten der Kontrollgruppe .....	17
Tabelle 4: OPN-MWs mit SDs und MDs bzw. mittlere Ränge und Rangsummen der OPN-Werte nach NYHA-Stadien gruppiert .....	17
Tabelle 5: Mann-Whitney-Us sowie Z-Werte und Signifikanz der OPN-MWs-Unterschiede zwischen Gruppe NYHA II und I bzw. III .....	18
Tabelle 6: Unterschied OPN-MW, 95% KI und p-Wert zwischen der Gruppe NYHA I und III .....	18
Tabelle 7: OPN-MWs mit SDs und MDs der nach Hausmedikation gruppierten Patientenkohorte .....	18
Tabelle 8: Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten zwischen der Patientengruppe ohne aufgeführte Medikation und mit Medikation bzw. mit ACE-Hemmer, ARB oder ACE-Hemmer + MRA .....	19
Tabelle 9: Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten zwischen der Patientengruppe mit ACE-Hemmer und ARB bzw. ACE-Hemmer + MRA .....	19
Tabelle 10: Unterschied der OPN-MW mit 95% KI und p-Wert zwischen der Patientengruppe mit ARB und ACE-Hemmer + MRA .....	19
Tabelle 11: n-Werte, OPN-MWs mit SDs und MDs, Unterschiede der OPN-MWs mit 95% KIs und p-Werten der gruppierten Patientenkohorte .....	20

<i>Tabelle 12: OPN-MWs mit SDs und MDs, mittlere Ränge sowie Rangsummen, Mann-Whitney-Us, Z-Werte und Signifikanz der gruppierten Patientenkohorte .....</i>	<i>21</i>
<i>Tabelle 13: n-Werte, OPN-MWs mit SDs und MDs, eingeteilt nach Grad der MKI .....</i>	<i>21</i>
<i>Tabelle 14: Unterschiede der OPN-MWs, 95% KIs, p-Werte zwischen den Gruppen MI 0° und 1° bzw. 2° .....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 15: Unterschiede der OPN-MWs, 95% KI, p-Wert zwischen de Gruppe MI 1° und 2° .....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 16: n-Werte, OPN-MWs mit SDs und OPN-MDs des gruppierten LVMMi der Patientenkohorte .....</i>	<i>25</i>
<i>Tabelle 17: Unterschiede OPN-MWs, p-Werte und 95% KIs der 2-seitigen t-Tests zwischen Gruppe 0 und 1, sowie 0 und 2 bzw. 3 .....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 18: Unterschiede OPN-MWs, p-Werte und 95% KIs der 2-seitigen t-Testes zwischen Gruppe 1 und 2 bzw. 3 .....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 19: Unterschied OPN-MW, p-Wert und 95% KI des 2-seitigen t-Testes zwischen Gruppe 2 und 3 .....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 20: OPN-MWs und SDs, MDs, n-Werte der nach Grad der HFpEF gruppierten Kohorte .....</i>	<i>27</i>



## **Danksagung**

An erster Stelle möchte ich mich auf ganzer Linie herzlichst bei meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Christoph Langer, bedanken. Ich danke für die Bereitstellung des Themas und die Durchsicht der Arbeit. Für Deine Betreuung während des gesamten Prozesses der Entstehung dieser Arbeit möchte ich mich jedoch ganz besonders bedanken. Für das jederzeit für Hilfestellungen, Fragen und Kritik zur Verfügung Stehen, welches meine Motivation und mein Wissen im Speziellen für dieses Projekt sowie insbesondere für die Medizin im Allgemeinen stets gesteigert hat, danke ich Dir sehr!

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Norbert Frey, Direktor der Klinik für Innere Medizin III mit den Schwerpunkten Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin, für die Freistellung des Themas der Doktorarbeit und die Durchsicht dieser.

Herrn Dr. med. Matthias Lutz und Herrn Dr. med. Matthias Eden danke ich für die Hilfestellung bei der Auswertung der echokardiographischen Daten.

Ich danke Frau Annerose Nissen für die Durchführung der ELISA-Experimente.

Herrn Dipl. Math. Arne Jochens danke ich für die Ausarbeitung der statistischen Ergebnisse und die Einarbeitung in SPSS.

Ich möchte mich bei Sylvia Swierzevska, Mirko Hohnhorst und Hauke Harders für die gute Zusammenarbeit und fortwährende Unterstützung bedanken.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern und Großeltern, welche mich immer wie selbstverständlich während meines Studiums und darüber hinaus unterstützt haben.

Ihnen möchte ich diese Arbeit widmen.

Danke auch meinen Freunden, die mich während meines Studiums innerhalb und vor allem ausserhalb der Universität begleitet haben.

Liebe Frau Dr. rer. nat. Theresa Sophie Nuguid, ich danke Dir vom ganzen Herzen!



# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name	Tobias Osterwald
Geburtstag	21.10.1986
Geburtsort	Eckernförde
Familienstand	ledig

## Schul Ausbildung

August 1993 - Juni 1997	Grundschule Windmühlenweg in Hamburg
August 1997 - Juni 2006	Gymnasium Hochrad in Hamburg
Oktober 2006 – März 2007	„Work and Travel“ in Australien

## Zivildienst

März 2007 - März 2008	Freiwilliges soziales Jahr als Rettungssanitäter beim Arbeiter-Samariter-Bund in Hamburg-Altona
-----------------------	---

## Hochschulausbildung

April 2008 - August 2010	Vorklinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Georg-August-Universität zu Göttingen, Abschluss: Erstes Staatsexamen
April 2011 - Mai 2015	Klinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Christian-Albrecht-Universität zu Kiel, Abschluss: Drittes Staatsexamen, Gesamtnote: gut (1.83)
Seit Dezember 2013	Doktorand in der Kardiologie bei PD Dr. med. Christoph Langer: <i>„Osteopontin als biologischer Marker in der Evaluation der Hypertrophen Kardiomyopathie– eine Pilotstudie“</i>

## Famulaturen

März 2012	Kardiologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Kiel
Juli - August 2012	Notfallaufnahme, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Kiel
März - April 2013	Gastroenterologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Kiel
August 2013	Internistische Praxis, Dr. med. Christoph Müller-Schwefe, Hamburg

## Praktisches Jahr

April 2014 – April 2015	imland Klinik Eckernförde: Innere Medizin, Chirurgie Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Kiel: Anästhesie
-------------------------	--

## Beruflicher Werdegang

Seit Juni 2016	Assistenzarzt in der Klinik für Innere Medizin, Evangelisches Amalie Sieveking-Krankenhaus
----------------	---



## Veröffentlichungen

ESC Congress 365, 2014:

Abstract: **P6172**

### **Intramycardial fibrosis and muscle mass in hypertrophic cardiomyopathy: may cardiac CT and osteopontin contribute to diagnosis?**

#### **Authors:**

C. Langer<sup>1</sup>, L. Lutz<sup>1</sup>, M. Rosenberg<sup>1</sup>, M. Eden<sup>1</sup>, T. Osterwald<sup>1</sup>, O. Jansen<sup>2</sup>, P. Schaefer<sup>2</sup>, N. Frey<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Hospital of Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Department of Cardiology - Kiel - Germany

<sup>2</sup>University Hospital of Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Department of Radiology - Kiel - Germany

#### **Topic(s):**

Cardiomyopathies

#### **Citation:**

European Heart Journal (2014) 35 (Abstract Supplement), 1091

**Introduction:** Ventricular fibrillation in Hypertrophic Cardiomyopathy (HCM) is partially due to intramycardial fibrosis (IF). For IF assessment usually provided by cardiovascular magnetic resonance with late gadolinium enhancement (LGE-CMR) late enhanced computed tomography (leMDCT) and different serum-markers have been introduced. Convincing correlations have never been proven. By validating with LGE-CMR we tested leMDCT and a new fibrosis serum-marker, osteopontin, a secreted glycoprotein (OPN) in consecutive HCM patients with regard to IF and left-ventricular muscle mass (LV-MM).

**Methods:** We included 30 patients consecutively. For IF-assessment all individuals were conducted to LGE- CMR (1.5T, 32-channel coil,) and leMDCT (64-slice). In LGE-CMR data acquisition (Phase Sensitivity Inversion Recovery sequence) was performed 12 minutes after injection of Gadolinium Diethylenetriamines penta-acetic acid (0.15 mmol/kgBW). LeMDCT scans were carried out 7 minutes after injection of 150mL iodinated dye (Iopromid, Iodine 350 mg/mL). Besides healthy controls all patients were taken blood samples for assessment of OPN levels (Human Osteopontin Assay; IBL). Finally, OPN was correlated

with LGE-CMR-, leMDCT- and standard 2D echo-data.

**Results:** Mean age of patients and healthy controls was  $62.4 \pm 14.7$  vs.  $56.6 \pm 7.2$  years. LeMDCT detected IF in 19/30 patients (63.3%) validated by LGE-CMR. Tissue density of IF was  $142 \pm 51$  HU vs.  $89.9 \pm 19.3$  HU in remote myocardium;  $p < 0.001$ . LV-MM and IF-mass was assessed by leMDCT with  $151.3 \pm 46.8$  gMM and  $8.4 \pm 5.2$  gIF vs. by LGE-CMR with  $169.4 \pm 62$  gMM and  $10.2 \pm 6.3$  gIF. Controls and HCM-patients presented an OPN level of  $396.7 \pm 96.8$  ng/mL vs.  $664 \pm 284.7$  ng/mL ( $p = 0.0001$ ). Controls vs. HCM-patients showed a significant difference in mean value of  $267.3$  ng/mL (2sided T-Test;  $p < 0.0001$ , 95%CI  $165.8; 368.8$ ). IF quantified by leMDCT and LGE-CMR correlated with OPN:  $r = 0.21$  ( $p = 0.37$ ) and  $r = 0.23$  ( $p = 0.33$ ). Correlation of OPN with left-ventricular (LV) muscle mass (MM) assessed by LGE-CMR and leMDCT in HCM patients was  $r = 0.52$  ( $p = 0.01$ ) and  $r = 0.56$  ( $p = 0.02$ ). In contrast, OPN correlated weakly with calculated LV-MM ( $r = 0.29$ ,  $p = 0.04$ ) and E/A (Spearman-Rho =  $-0.25$ ,  $p = 0.08$ ). There was no significant difference with regard to distribution of OPN in patients with HNCM, HOCM and apical HCM ( $p = 0.43$ ).

**Conclusion:** In consecutive HCM patients validated leMDCT reliably quantifies intramyocardial fibrosis. In contrast, Osteopontin and the extent of intramyocardial fibrosis and LV muscle mass showed an unexpectedly weak correlation. The diagnostic value of these new approaches should be further investigated in larger HCM cohorts.